

Estratégia para o preparo de  
2006 SP-2006.00173



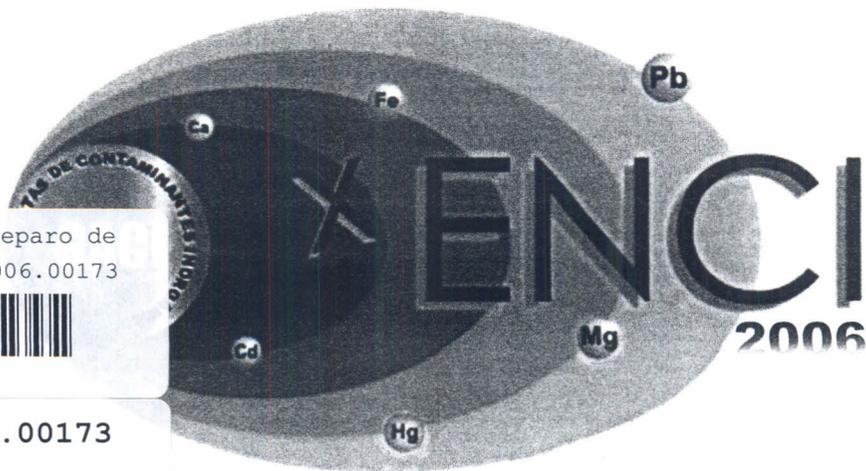
16592-1

PROCI-2006.00173

BAR

2006

SP-2006.00173



# X Encontro Nacional sobre Contaminantes Inorgânicos

## V Simpósio sobre Essencialidade de Elementos na Nutrição Humana

25 a 27 de outubro de 2006  
Fundação Centro Tecnológico de Minas Gerais  
Belo Horizonte - MG

Realização:



## ESTRATÉGIA PARA O PREPARO DE AMOSTRAS DE SANGUE BOVINO VISANDO A DETERMINAÇÃO DE FERRO LIVRE

Pelizaro, Cláudia Bartoli<sup>1,2</sup>; FRESCHI, GIAN PAULO GIOVANNI<sup>2,3</sup>; OLIVEIRA, MÁRCIA

CRISTINA DE SENNA<sup>2</sup>; Nogueira, Ana Rita de Araujo<sup>2</sup>

1-Grupo de Análise Instrumental Aplicada, Departamento de Química, Universidade Federal de São Carlos, (16) 3351 8058, C.P. 676, 13560-970, São Carlos SP.

2-Grupo de Análise Instrumental Aplicada, Embrapa Pecuária Sudeste, (16)33615611, C.P.339,13560-070, São Carlos SP.

3-Universidade Federal da Grande Dourados, (67) 3411-3600, Dourados, MS – Brasil.

e-mail: claupelizaro@gmail.com

*Palavras-chave: ferro, sangue, diálise, preparo de amostras, GFAAS*

### 1 INTRODUÇÃO

Pequenas quantidades de ferro são essenciais para a vida. Contudo, torna-se tóxico quando presente em maiores concentrações. O Fe está envolvido em diferentes processos, tais como: agente transportador de oxigênio no sangue de mamíferos, aves e peixes (hemoglobina); armazenamento de O<sub>2</sub> no tecido muscular (mioglobina); como agente de transporte de elétrons nas plantas, animais e bactérias (citocromos) e como agente de transferência de elétrons em plantas e bactérias (ferredoxinas); para o armazenamento e remoção de ferro em animais (ferritina e transferrina); na nitrogenase (a enzima das bactérias que fixam o N<sub>2</sub>); em diversas outras enzimas como aldeído-oxidase (oxidação de aldeídos), catalase e peroxidase (decomposição de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) e dehidrogenase succínica (oxidação aeróbica de carboidratos) [1].

O Fe solúvel no nosso corpo pode ser encontrado nas seguintes formas: iônica, ligada ao grupo heme, ferritina e em outros complexos solúveis [2], sendo que depois da hemoglobina, a ferritina é a segunda em quantidade de Fe. Os animais, inclusive o homem, absorvem ferro na forma de Fe(II), a partir dos alimentos, em seu sistema digestivo. Suas necessidades são bastante limitadas, pois o Fe que existe no sangue é reciclado. Quando o Fe é absorvido, reage imediatamente para formar transferrina [1,3].

Dentre as funções vitais, o metabolismo do ferro é, também, de grande importância para a sobrevivência de muitos parasitas e tem sido estudado em pesquisas destinadas ao controle de doenças e ao desenvolvimento de novos medicamentos [4]. Várias espécies de parasita mostram uma redução de sua atividade respiratória durante o ciclo de desenvolvimento após o início do repasto sangüíneo, passando a utilizar vias anaeróbicas para obtenção de energia [1,2]. Esse seria um mecanismo de

proteção, introduzido para proteger os parasitas contra a atividade das espécies facilmente oxidadas produzidas pelo metabolismo aeróbico. Essas reações podem aumentar os danos oxidativos sobre as células parasitárias [4]. Considerando essa possibilidade, a determinação do ferro livre no sangue pode vir a ser importante para o entendimento de ciclos parasitários, como por exemplo o carrapato bovino (*Boophilus microplus*).

## 2 OBJETIVO

Estabelecer metodologia para a determinação de Fe livre em amostras de sangue de bovinos para posterior determinação dos teores presentes em animais resistentes e sensíveis a carrapatos.

## 3 MATERIAIS E MÉTODOS

Para a determinação do Fe livre presente no sangue de bovinos foi feita diálise empregando sistema em fluxo, utilizando uma cela com quatro canais (dois de entrada e dois de saída), separados por uma membrana com porosidade de 6 a 8 KDa, onde o sangue e a solução coletora (tampão TRIS-ácido acético, pH ~ 7,0) eram dispostos em sentidos inversos, a  $0,3 \text{ mL min}^{-1}$ . A solução coletora foi recolhida e o teor de Fe presente determinado por espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (GFAAS). O transportador utilizado foi o próprio tampão TRIS-ácido acético. O volume de amostra injetado foi de 1 mL, sendo colhidos de 2 a 3 mL da solução coletora após diálise. A cela de diálise esta esquematizada nas figuras 1 e 2. A curva analítica foi preparada em meio tampão TRIS-ácido acético. Foram construídas curvas de pirólise e atomização para análise no GFAAS.



Figura 1. Interior da cela de diálise em fluxo

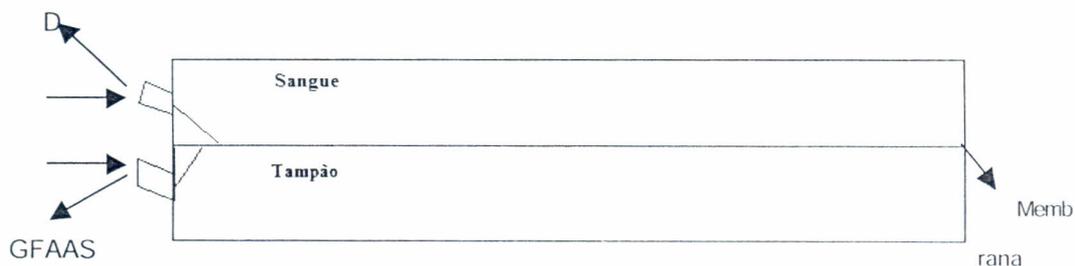


Figura 2. Esquema da cela de diálise, vista frontal, onde D = Descarte

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 CURVAS DE PIRÓLISE E ATOMIZAÇÃO

Inicialmente foi traçada uma curva de pirólise e atomização no meio TRIS-ácido acético para a determinação do Fe livre presente no sangue (Figura 3). O volume de amostra injetado foi de 20  $\mu\text{L}$ , sem modificador químico.

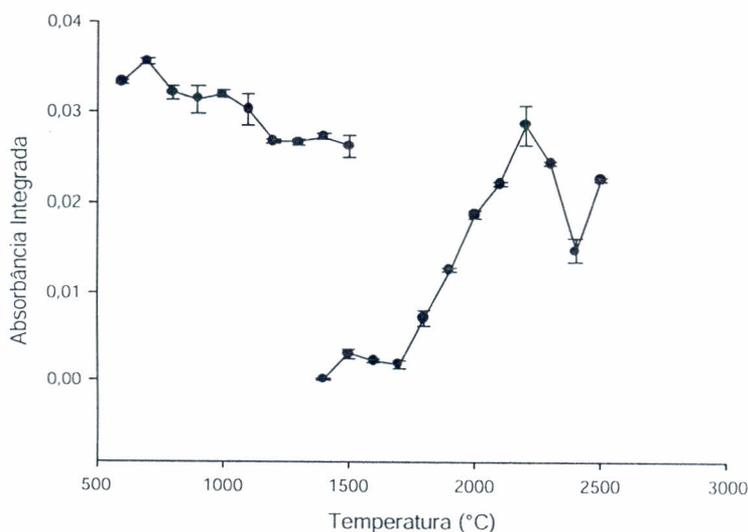


Figura 3. Curvas de pirólise e atomização em meio TRIS-ácido acético

A partir do estabelecimento do programa de aquecimento (Tabela 1), foram realizados testes de adição e recuperação e calculadas as figuras de mérito para a determinação de Fe em meio Tris-ácido acético. Em seguida o procedimento foi avaliado em amostras de sangue de bezerros, que foram analisadas logo após coleta.

Tabela 1. Programa de aquecimento utilizado no GFAAS

Etapa	Temperatura (°C)	Tempo (s)	Fluxo do gás (mL min <sup>-1</sup> )	Leitura
Secagem	90	25	3,0	Não
	120	30	3,0	Não
Pirólise	1300	15	3,0	Não
Atomização	2200	5	0	Sim
Limpeza	2600	4	3,0	Não

Ácido clorídrico foi evitado para a correção do pH do tampão, pois seu emprego afetou a repetibilidade da determinação devido à formação de cloreto férrico, que causou efeito de memória nas determinações. O ácido utilizado para a correção do pH do tampão TRIS foi o ácido acético. Paládio foi avaliado com modificador químico, porém não causou a estabilidade térmica do Fe, provavelmente por este modificador também estar em meio HCl. No entanto, os teores observados nas amostras analisadas apresentaram concentrações acima do limite de determinação calculado (2,0 µg g<sup>-1</sup>), fato que se torna vantajoso, pois não há necessidade de adição de outras soluções, que podem trazer contaminações.

Os testes de adição e recuperação apresentaram resultados em torno de 99 a 102%. Os teores de Fe livre determinados nas amostras de sangue bovino se encontram na faixa de 50 a 70 µg L<sup>-1</sup>.

## 5 CONCLUSÕES

O forno de grafite se mostrou eficiente na determinação do Fe livre nas amostras de sangue bovino após diálise. Os valores encontrados serão tratados estatisticamente, para comparação e avaliação da hipótese do trabalho.

## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] LEE J. D. **Química Inorgânica não tão Concisa**. São Paulo, SP: Editora Edgard Blücher Ltda, 1996.
- [2] WIENK K. J. H., MARX J. J., BYNEN A. C. The concept of iron bioavailability and its assessment. **Eur. J. Nutr.**, v. 38, p.51-75, 1999.
- [3] "Iron transport and cellular uptakes". [http://sickle.bwh.harvard.edu/iron\\_transport.html](http://sickle.bwh.harvard.edu/iron_transport.html)
- [4] OLIVEIRA P. L., OLIVEIRA M. F. Vampires, Pasteur and reactive oxygen species. Is the switch from aerobic to anaerobic metabolism a preventive antioxidant defense in blood-feeding parasites?. **FEBS Letters**, v. 525, p.3-6, 2002.