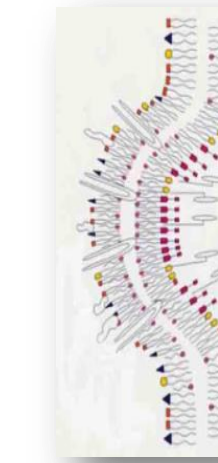


ADAPTAÇÃO DO MÉTODO DO RESORCINOL PARA DOSAGEM DE ÁCIDO N-ACETIL-NEURAMÍNICO PARA UM MEIO AQUOSO



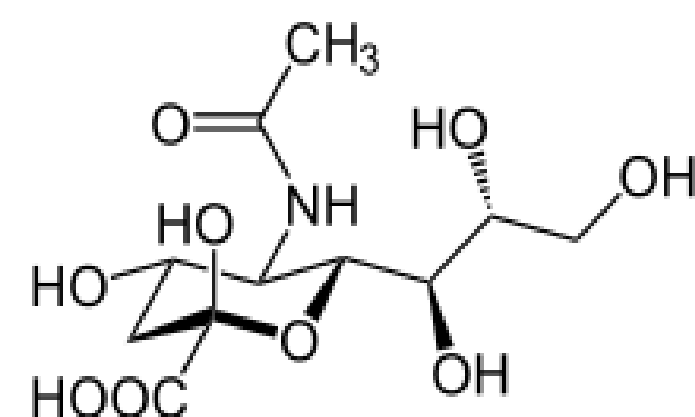
Ana Luíza Rodrigues Fragoso
Prof. Vera Maria Treis Trindade
(Departamento de Bioquímica – ICBS – UFRGS)
ana.fragoso@ufrgs.br



Laboratório de Bioquímica e
Biologia Celular de Lipídios
Departamento de Bioquímica
ICBS – UFRGS

INTRODUÇÃO

- O ácido N-Acetil-Neuramínico (NANA) é um derivado de ose característico da parte glicídica dos gangliosídios e a sua avaliação serve como parâmetro para a quantificação destes glicoesfingolipídios.
- O método do resorcinol-HCl para a dosagem de NANA utiliza, como forma de aumentar o coeficiente de extinção molar, a mistura de solventes acetato de butila / butanol (85/15;v/v).
- O incremento da eficiência óptica dos espectrofotômetros e miniaturização das técnicas colorimétricas estimulou a adequação deste método para o uso de leitoras de placas..



N-Acetil-Neuramínico (NANA)

OBJETIVO

Verificar a possibilidade de utilizar, somente, o meio aquoso para a dosagem de NANA, eliminando o meio orgânico, que era inadequado para o tipo placas existente no laboratório.

MÉTODOS

- As avaliações foram realizadas segundo o método de Svennerholm, sem o solvente orgânico, e em diferentes condições (n=3).
- A densidade óptica das soluções aquosas foi detectada em placas de plástico de 96 poços, num espectrofotômetro Spetramax M5. (n=3).

RESULTADOS

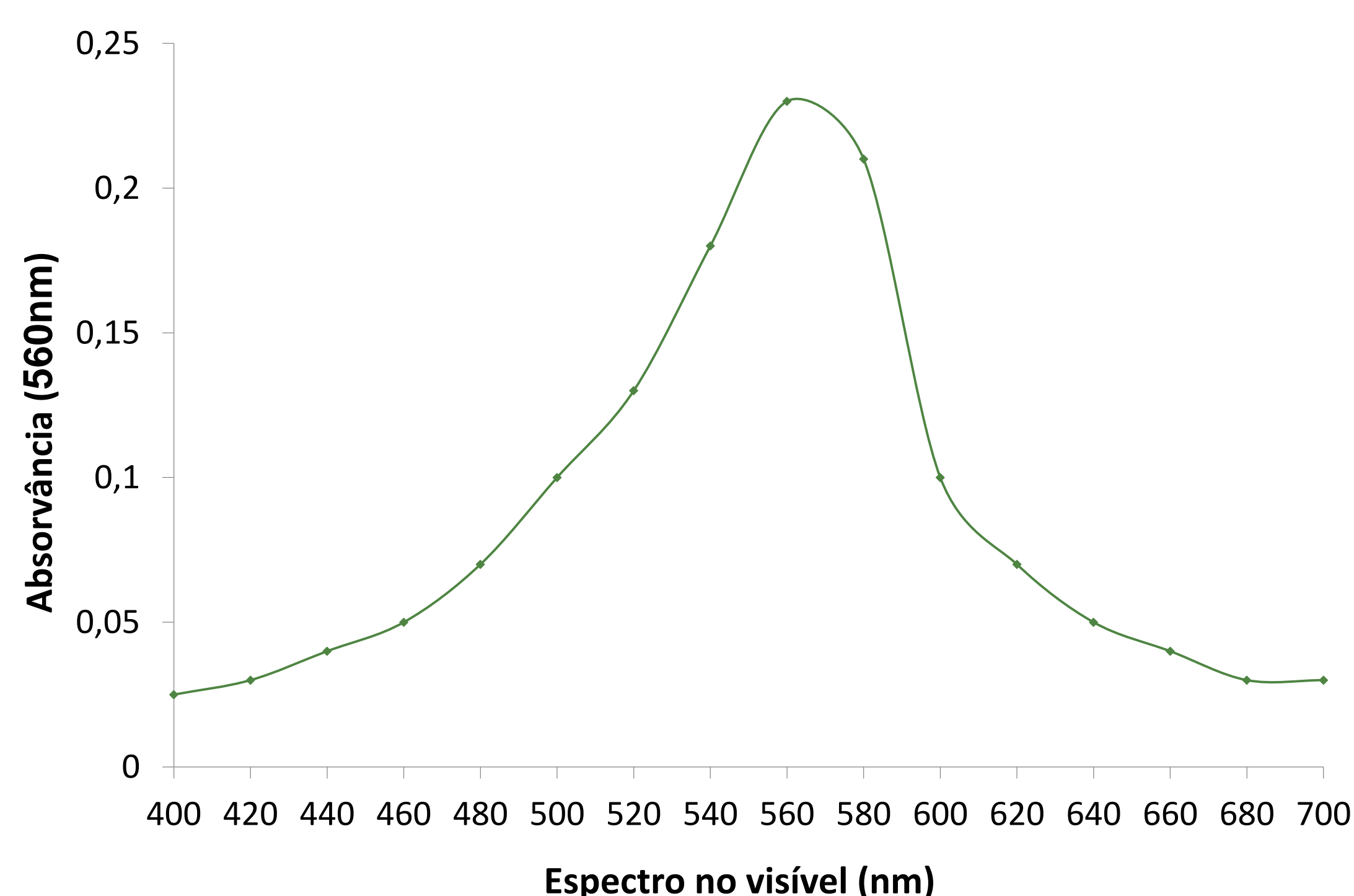


Fig.1 Espectro de absorção do composto corado obtido a partir de 100 µmoles de NANA usando o método de Svennerholm sem solvente orgânico.

- A maior absorção na faixa do visível ocorreu em 560 nm, um pouco menor da original (580 nm).

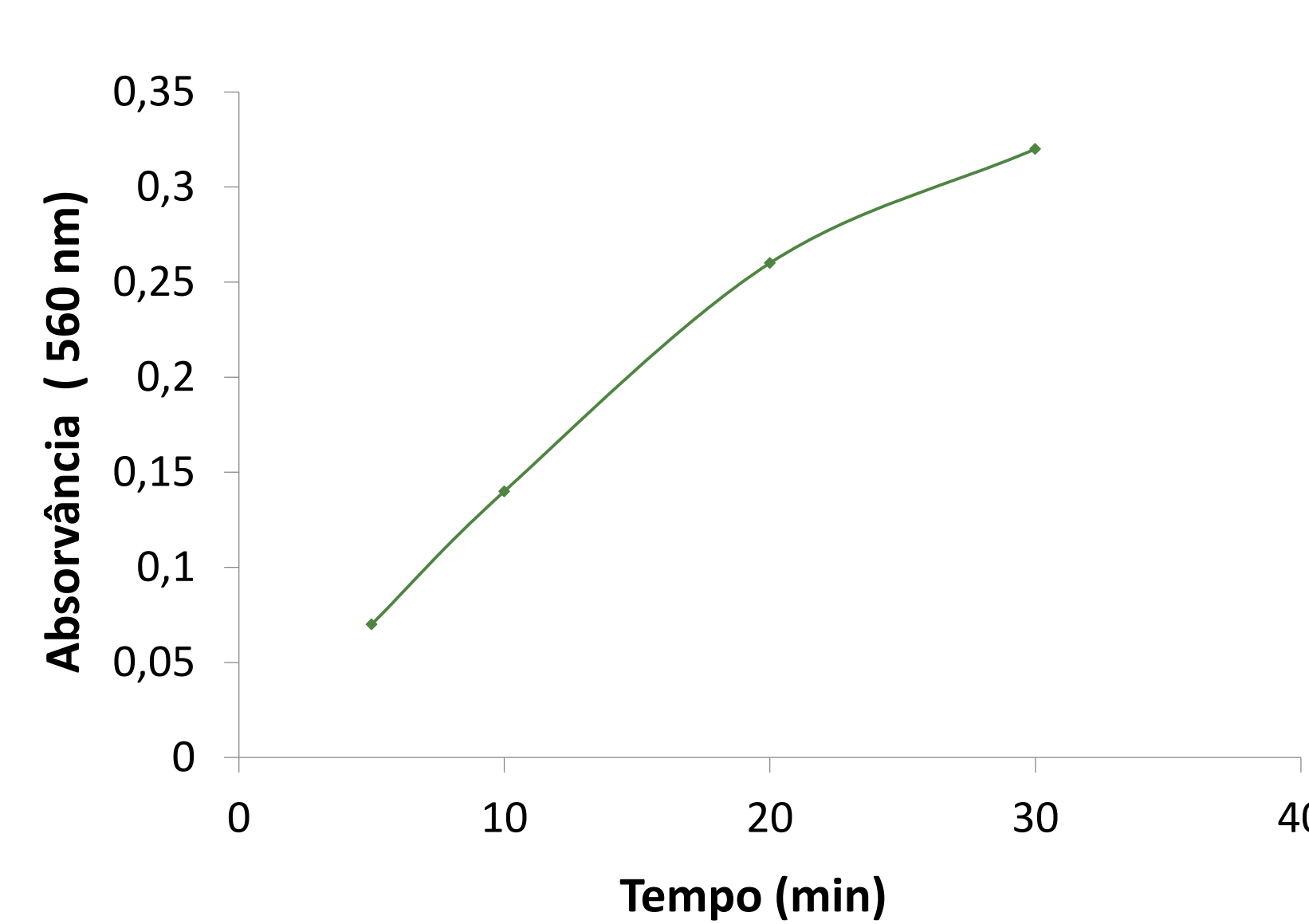


Fig. 2 Influência do tempo de incubação a 100°C sobre a formação do composto corado obtido a partir de 100 µmoles de NANA usando o método de Svennerholm sem solvente orgânico.

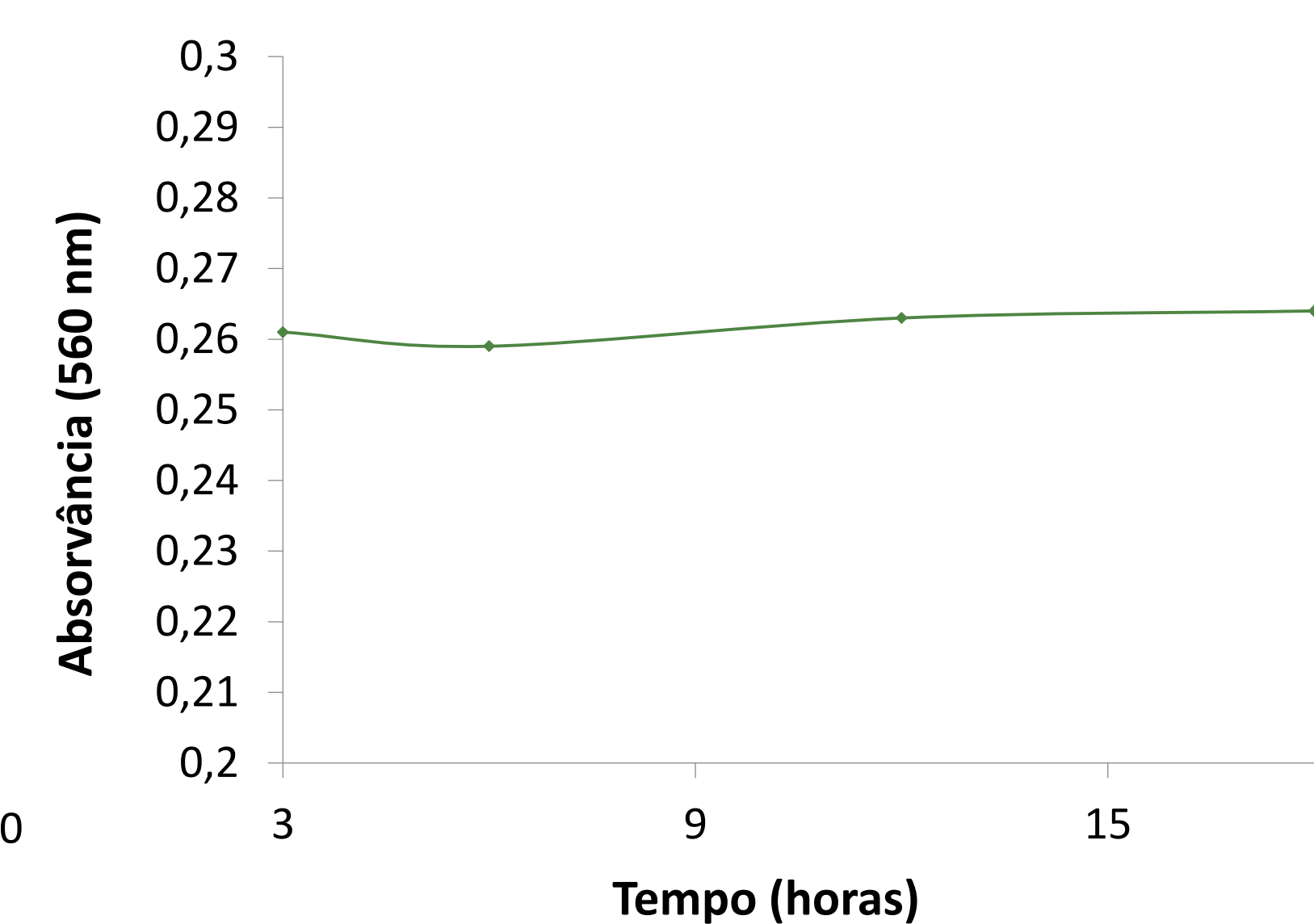


Fig. 3 Estabilidade do composto corado obtido a partir de 100 µmoles de NANA usando o método de Svennerholm sem solvente orgânico.

- A coloração foi linear com o tempo de incubação, a 100°C, até 20 minutos, sendo estável até 18h.

Quantidade de NANA (µmoles)	Absorvância em 560 nm sem solvente orgânico	Absorvância em 560 nm com dimetilsulfóxido
25	0,052	0,068
50	0,100	0,115
100	0,190	0,203
200	0,395	0,410

Tab. 1 Comparação entre as absorvâncias obtidas do composto corado partir de quantidades crescentes de NANA usando o método de Svennerholm sem solvente orgânico ou com dimetilsulfóxido.

- A utilização de dimetilsulfóxido (miscível em água) não modificou absorvância.

Extrato lipídico total 200 µL	Método original de Svennerholm (µmoles)	Sem solvente orgânico (µmoles)
Córtex pré-frontal	28 ± 1,1	26 ± 1,5
Hipocampo	17 ± 0,9	15 ± 1,1

Tab. 2 Comparação entre as quantidades NANA-gangliosídios em extratos lipídicos totais de córtex cerebral e de hipocampo.

- As dosagens de NANA em extratos lipídicos utilizando o método original (coloração em meio orgânico) e o método testado (coloração meio aquoso) foram semelhantes.

CONCLUSÃO

As alterações realizadas no método de Resorcinol-HCl (eliminação do solvente orgânico, mudança do comprimento de onda) permitiram a sua adaptação para o uso de leitora de placas.

REFERÊNCIAS

- L. Svennerholm, Quantitative estimation of sialic acids a colorimetric resorcinol-hydrochloric acid method, *Biochim. Biophys. Acta* 24 (1957) 604–611.
- L. Skoza, S. Mohos, Stable thiobarbituric acid chromophore with dimethyl sulphoxide. Application to sialic acid assay in analytical de-O-acetylation, *Biochem. J.* 159 (1976) 457–462.
- J. Folch, M. Lees, G.H. Sloane-Stanley, A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.* 226 (1957) 497–509.

Agradecimentos:

