



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE FEIRA DE SANTANA

Autorizada pelo Decreto Federal nº 77.496 de 27/04/76

Recredenciamento pelo Decreto nº 17.228 de 25/11/2016



PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

COORDENAÇÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

## XXVII SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UEFS

SEMIC - 2023

### ESTUDO DA FLUORESCÊNCIA DA BSA ASSOCIADA A QUERCETINA

**Jefferson Borges<sup>1</sup>; Ernando Ferreira<sup>2</sup>; Edrian Mania<sup>3</sup>**

1. Jefferson França Borges, Graduando em Física, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail:

[francajeffersonb@gmail.com](mailto:francajeffersonb@gmail.com)

2. Ernando Ferreira, Departamento de Física, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail:

[Ernando@uefs.br](mailto:Ernando@uefs.br)

3. Edrian Mania, Departamento de Física, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail:

[emania@uefs.br](mailto:emania@uefs.br)

**PALAVRAS-CHAVE:** Supressão; Espectroscopia; BSA.

## INTRODUÇÃO

Desde o início do século XX a sociedade sofreu grandes avanços tecnológicos que, com o passar dos anos, tais avanços, possibilitou o surgimento de novos ramos de pesquisa. Devido ao uso das características interacionais da radiação eletromagnética (luz) com a matéria, a espectroscopia é uma das técnicas supracitadas muito usual para tais análises, que será empregada nesta pesquisa. Assim, quando um composto molecular é excitado com radiação ultravioleta (UV) ele emitiu luz, por meio do processo de transição eletrônica, no qual o elétron sai do seu estado fundamental passando para o estado excitado, conhecido como estado excitado singlete. Sendo um fenômeno que tem um tempo de vida curto, da ordem de  $10^{-9}$  s, diretamente ligado ao momento de excitação da molécula em que a luminescência gerada está, na grande maioria dos casos, na faixa da luz visível, onde pode ser medido sua intensidade de fluorescência. Os fluoróforos, componentes de uma molécula proteica responsáveis por este processo, são propensos a quaisquer mudanças que possam afetar a molécula, desta forma, o meio ou interação moleculares pode resultar na diminuição da intensidade de fluorescência. E para entender essa ligação, a proteína Albumina de soro bovino (BSA) foi a melhor escolha por ser 80% estruturalmente semelhante a albumina de soro humano, e devido a isto é amplamente usada para teste em laboratório para pesquisa. Sendo produzida pelo fígado,

ela tem um amplo papel de funcionalidade dentro do organismo, atuando como transportadoras de nutrientes e hormônios, regulador de pH no sangue e outros processos fisiológicos. Com isso, devido ao comportamento é muito delicado sendo propenso a sofrer mudanças da intensidade de fluorescência, a associação da BSA com a quercetina será averiguada por meio dessa diminuição da intensidade da amostra, fenômeno que é conhecido como supressão de fluorescência.

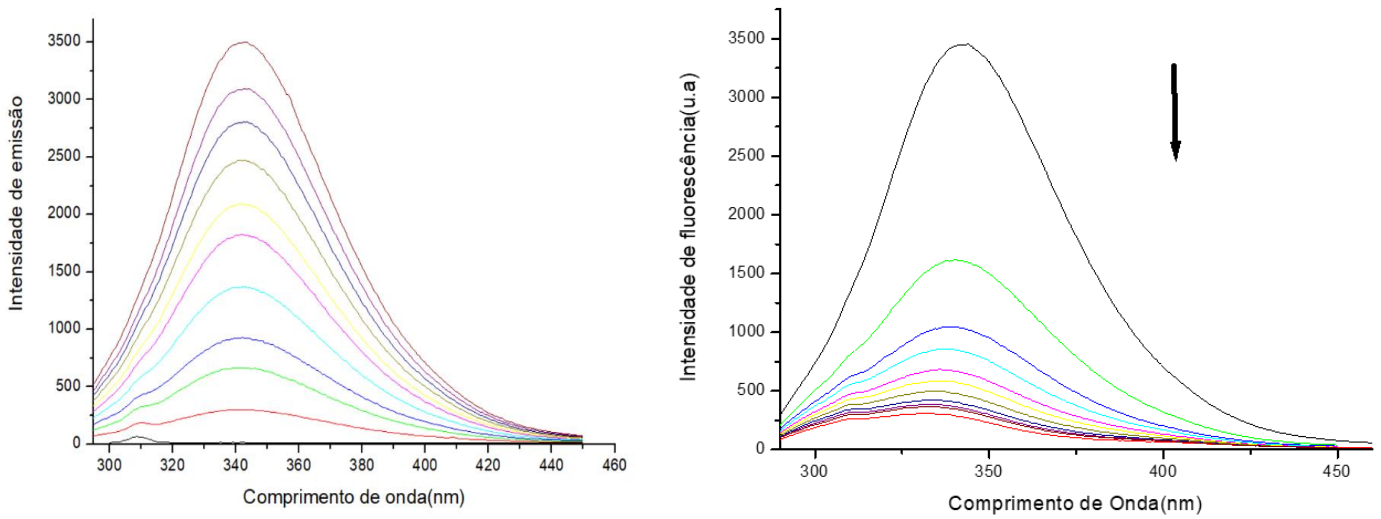
## **METODOLOGIA**

A supressão, ou extinção, da fluorescência é um fenômeno utilizado para análise de sistemas bioquímicos, pois muitas interações moleculares podem resultar em alterações na intensidade da fluorescência. Desta forma, para aplicação deste método foi utilizado quercetina ultrapura, BSA, etanol (50%), água ultrapura ( $p = 18,2 \text{ M}^2$ ), solução tampão de fosfato e vidrarias. Utilizando agitadores magnéticos, balança de precisão, foram preparadas soluções de estoque da BSA de  $1,5 \mu\text{M}$  em água ultrapura e da quercetina a  $0,5 \text{ mM}$  em solução tampão de DMSO com proporção de 7:1. Assim foi feita a diluição da BSA em 3 ml de água ultrapura de maneira que a cada diluição foi-se aumentando a concentração da proteína, de 0 a  $1,5 \mu\text{M}$ , onde foram feitas as medidas do perfil de fluorescência da BSA. Para as medidas de supressão da fluorescência foi sendo adicionado 0,25 ml de quercetina em 3ml de BSA a  $1,5 \mu\text{M}$ , de modo que a concentração de quercetina permanecesse entre 0,01 e 0,5 mM. Para ambas as medidas, tanto o perfil quanto a supressão da fluorescência, foram feitos com o espectrofluorímetro, usando largura de banda de 2,5 e 5 nm, de excitação e emissão respectivamente

## **RESULTADOS**

Através do uso do espectrofluorímetro, a análise de fluorescência da BSA, apresentada na figura 1(a), foi obtida. Para isso, uma amostra de 3 ml de BSA foi utilizada, aumentando-se sua concentração gradativamente de 0 a  $1,5 \mu\text{M}$ , onde a linha laranja e=indica maior concentração e a vermelha a menor. Essa análise nos permitiu constatar que o comprimento de onda com maior intensidade de emissão é de 380 nm. Ao observarmos os dados da figura 1(b), podemos analisar que ocorreu a supressão da fluorescência da molécula da proteína BSA à medida que a concentração e quercetina aumenta na amostra, onde a linha vermelha indica maior concentração de quercetina e a linha preta menor concentração

Figura 1



(a): Perfil de fluorescência da BSA feito com concentração crescente, onde o ponto de maior intensidade de emissão indica, também, maior concentração, 1,5  $\mu\text{M}$  (b): Perfil de emissão da BSA, a 1,5  $\mu\text{M}$ , com o aumento da concentração da quercetina, 0 a 0,25 ml

Entretanto, outros fatores também podem culminar em uma extinção da fluorescência, fazendo com que os dados, inicialmente, se tornem incertos se houve uma detecção de supressão causada, diretamente, pela associação com a quercetina.

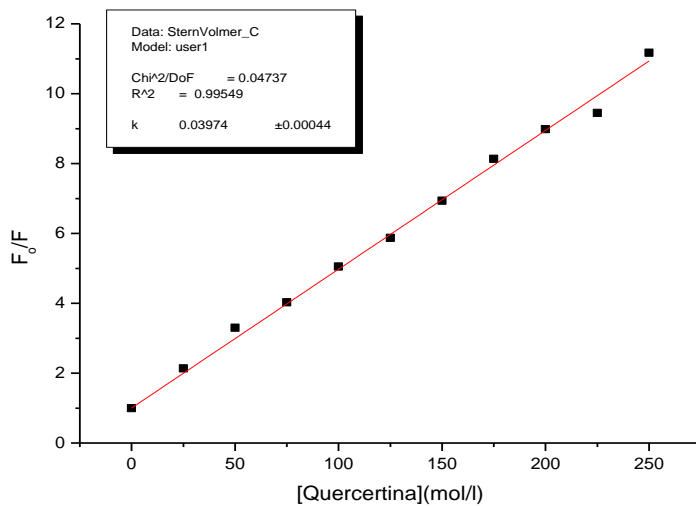


Figura 3: Stern-Volmer demonstrando a dependência linear de  $\frac{F_0}{F}$  com a concentração.

Porém, ao ser aplicado o princípio de extinção de fluorescência de Stern-Volmer, que traça uma relação em que determina que a supressão de fluorescência, causada por interações moleculares estar diretamente ligada ao aumento de concentração do supressor, denotando uma dependência linearmente proporcional, o que pode ser verificada na figura 3.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com base nos dados, pode se constatar (figura 3), que com o aumento da concentração de quercetina ocorre a supressão da fluorescência da BSA com parando com a varredura do seu espectro de emissão (figura 1(a)), confirmando a associação entre a proteína e flavonoide. Mas, após verificar o perfil da supressão, se faz necessário entendermos melhor a natureza de diminuição de fluorescência, aplicando o princípio de Stern-Volmer. Em alguns casos, a extinção de fluorescência pode ocorrer por muitas formas. Nesses casos, a representação gráfica da relação de Stern-Volmer perde sua característica linear. O que, por meio da figura 3 pode-se verificar neste caso que não ocorrer na associação da BSA com a quercetina. Assim, por meio desta dependência linear, aplicando o princípio da extinção, pode ser averiguado que o processo de supressão se deu por meio da associação entre o fluoróforo e o supressor.

## REFERÊNCIAS

- FERREIRA, V.B. Nanotecnologia e sua importância no contexto brasileiro. In: E-Science e políticas públicas para ciência, tecnologia e inovação no Brasil [online]. Salvador: EDUFBA, 2018, pp. 97- 106. ISBN: 978-85-232-1865-2. <https://doi.org/10.7476/9788523218652.0007>.
- CARVALHO, Juliana Machado de Estudo do comportamento dos quanta dots em meio aquoso e aplicação destes nanomateriais como sonda para determinação de rutina e quercetina / Juliana Machado de Carvalho; orientador: Ricardo Queiróz Aucélio; coorientadores: Andrea Rosane da Silva, Katia Christina Leandro. – 2014.
- LUIZ, Fabrício Casarejos Lopes Estudos de fluorescência estacionária e resolvida no tempo de anestésicos locais e de antibióticos da classe das fluoroquinolonas / Fabrício Casarejos Lopes Luiz; orientadora: Sônia Renaux Wanderley Louro. – 2009.
- MOREIRA, Mariete B.; Douglas S. Franciscato; Kalil C. F. Toledo; Joao Raul B. de Souza; Helena S. Nakatani; Vagner R. de Souza, Investigação da supressão de fluorescência de soro albumina bovina e humana por complexo de rutênio, Departamento de Química, Universidade Estadual de Maringá, 87020-900 Maringá - PR, Brasil, 2014.
- FERREIRA, Ernando Silva Interação da proteína albumina do soro bovino (BSA) com substratos sintéticos. Ribeirão Preto, 2009.
- PAPADOPOULOU, A. R. J. Green, and R. A. Frazier, "Interaction of Flavonoids with Bovine Serum Albumin: A Fluorescence Quenching Study," J. Agric. Food Chem., vol. 53, no. 1, pp. 158-163, jan. 2005.