

# CUANTIFICACIÓN POR ABSORCIÓN MOLECULAR EMPREGANDO AZAFRÁN COMO CROMÓFORO MEDIANTE UN LECTOR DE ABSORCIÓN PARA PLACAS ELISA

**REIJA OTERO, BELÉN  
RODRÍGUEZ GARCÍA, X. CARLOS**

*IES Lucus Augusti, Avda. Rodríguez Mourelo s/n, 27001, Lugo*

## 1. Introducción

O azafrán é actualmente unha das especias máis caras polo que a súa adulteración con colorantes artificiais como o E-102 é moi frecuente.

A análise mediante espectroscopía UV-VIS permite distinguir mostras puras de mostras adulteradas realizando a precipitación das crocetas do azafrán, que fai desaparecer a banda de absorción característica do cromóforo no caso do produto natural, mentres que os sintéticos conservan a súa banda despois deste proceso (Laura Santamaría, 2018).

Nós aproveitamos este feito de conservación da banda de absorción para deseñar un experimento de cuantificación por espectrofotometría de absorción molecular, empregando ademais un lector de placas ELISA (“Ensaio por inmunoabsorción ligado a enzimas”) pola súa versatilidade e capacidade de ler 96 mostras/patróns ao mesmo tempo.

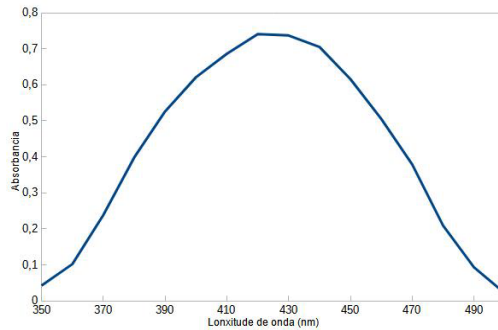
## 2. Fundamentación teórica e metodolóxica

O colorante empregado foi o E-102 comercializado con outras impurezas (contido mínimo en E-102 dun 12.5%), que presenta unha absorbancia que depende linealmente da súa concentración segundo a lei de Lambert-Beer. Esta dependencia lineal comprobámola nun lector de placas empregado para determinar a absorbancia en ensaios coma o ELISA. A ecuación lineal obtida permite posteriormente determinar a concentración de falsas mostras de concentración descoñecida preparadas previamente polo docente.

## 3. Desenvolvemento

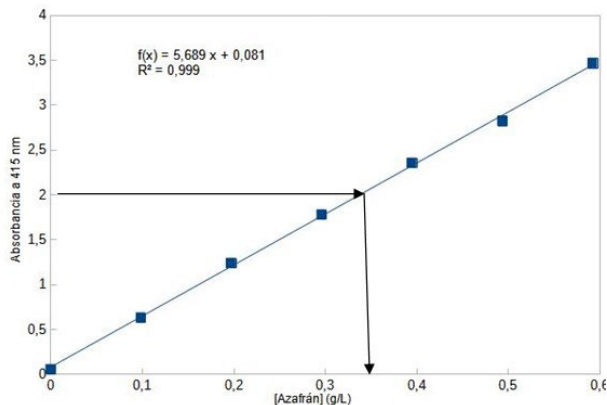
Co fin de determinar a que lonxitude de onda podemos traballar no lector de placas ELISA, realizamos previamente o espectro de absorción do colorante comercial E-102 cunha concentración de 0,10 g/L da especie con impurezas. Para iso empregamos un espectrofotómetro Jenway 6305 e pode observarse na figura 1, que temos un máximo de absorbancia entre 410 e 440 nm.

Deste xeito fixamos no lector de placas a lonxitude de onda de traballo a 415 nm, xa que a seguinte que nos permite o instrumento é de 450 nm. Polo tanto, rexistrouse a absorbancia, a esta lonxitude de onda, de disolucións patrón de diferente concentración de colorante nun lector iMark de BIO-RAD.



**Figura 1.** Espectro de absorción para o reactivo "colorante alimentario"

Axustouse un modelo lineal aos datos de calibrado cos patróns de concentracións 0,10, 0,20, 0,30, 0,40, 0,50 e 0,60 g/L (ver figura 2) e posteriormente determinamos a concentración das mostras proporcionadas polo docente a partir do seu valor de absorbancia a 415 nm. Na figura 2, ou a partir a ecuación da recta, deduciuse a concentración de colorante para unha mostra de absorbancia 2 e esta foi de 0,34 g/L de colorante.



**Figura 2.** Calibrado con patróns de colorante

#### 4. Conclusións

Cos medios dispoñibles para os alumnos do ciclo superior de Laboratorio de Análise e de Control de Calidade do noso IES fixemos unha determinación analítica cuantitativa dun colorante por absorción UV-VIS de xeito rápido e con pouca cantidade de mostra (300  $\mu$ L, fronte aos 3 mL que precisaríamos para unha cubeta dun cm de lado) nun lector de placas ELISA baseado na absorción molecular.

Este ensaio permite ver o fundamento doutras análises enzimáticas máis complexas e custosas, como a cuantificación de toxinas, que se realizou no bacharelato STEM do IES Lucus Augusti e foi presentada no Congreso ENCIGA do pasado ano (Reija, 2021).

#### 5. Referencias

- Laura Santamaría, L. (2018). Optimización de la precipitación de crocetas en azafrán. Estudio de la adulteración con colorantes artificiales mediante espectrofotometría UV-VIS y técnicas multivariantes.
- Reija, B. e Rodríguez, J.C. (2021). Cuantificación de toxinas co microcystest para STEM. Boletín das ciencias 93, 23-24.