

# OPTIMIZACIÓN DE LA TÉCNICA DE CONCENTRACIÓN DE PROTEÍNA EN EL MACROAGREGADO DE ALBÚMINA (MAA)

Koga R.<sup>(1)</sup> [rkoga@ipen.gob.pe](mailto:rkoga@ipen.gob.pe), Morote M.<sup>(1)</sup> [mmorote@ipen.gob.pe](mailto:mmorote@ipen.gob.pe)

(1) *Planta de Producción de Radioisótopos – IPEN / Lima, Perú*

## RESUMEN

Sobre la base de la técnica de Biuret, descrita en la Pharmacopea Americana USP 23, para determinar la concentración de proteínas presentes en el Agente de Radiodiagnóstico (ARD), denominado macroagregado de albúmina (MAA), se realizó una variante a esta técnica que viene a ser la incorporación de un equipo sonificador, con el propósito de disolver completamente los macroagregados para que no altere las lecturas en el espectrofotómetro.

Cabe mencionar que cada vial de MAA en solución, que se produce en la Planta de Producción de Radioisótopos del IPEN, contiene 1,88 mg de Sero Albúmina Humana (materia prima). Bajo este antecedente se analizaron tres lotes producidos en la Planta de Producción de Radioisótopos (PPR): Lote 010420 tuvo un promedio de 1,72 mg/ml por cada vial; el lote 007370 un promedio de 1,87 mg/ml por vial y lote 006280 un promedio de 1,32 mg/ml por vial; en el cual se pudo comprobar que el dispensado de esta solución no es uniforme de lote a lote.

## 1. ANTECEDENTES

La mayoría de los controles de calidad que se realizan a los radiofármacos se basa en la Pharmacopea Americana USP 23, uno de los controles que se realiza al MAA es la determinación de la concentración de proteína, sin embargo dicho control presenta dificultades en la metodología, debido a que los macroagregados presentes no se disuelven en su totalidad, lo cual al momento de agregarle el reactivo de BIURET para dar coloración a la proteína, esta no se teñía adecuadamente, debido a la formación de partículas parecidos a micelas, el cual daba resultados erróneos, es decir, distorsionan las lecturas en el espectrofotómetro, por tal motivo se ha establecido una variante en la técnica con el propósito de disolver completamente los macroagregados.

Para lograr dicho propósito, se ha incorporado a este trabajo, la utilización del sonificador y obtener resultados satisfactorios, es decir para determinar la cantidad de proteínas que presenta cada vial de MAA.

## 2. MATERIALES Y MÉTODOS

**Preparación de la muestra:** El vial con la solución de MAA contiene un volumen de 1ml, esta se homogeniza con un bortex por espacio de un minuto, luego se retira toda la solución del vial y se agrega un tubo de centrifuga (capacidad de 10 ml), agregar al vial 1ml de NaCl 0,9 % para enjuagar y extraer las muestras que hayan quedado pegadas en la pared del vial y se agrega al tubo de centrifuga.

**Preparación del estándar:** En un tubo de ensayo se agrega 2 mL de una solución que contiene 2 mg de albúmina humana por mililitro de NaCl 0,9 %.

**Preparación del blanco:** Agregar 2 mL de NaCl 0.9% en un tubo de ensayo.

**Procedimiento del control:** El tubo que contiene la muestra se centrifuga a 2000 rpm por 10 minutos, con la ayuda de una pipeta Pasteur se retira el líquido sobrenadante y agregar 2 mL de NaCl 0,9% y volver a centrifugar por otros 10 minutos (repetir este paso por triplicado).

Al término del proceso de lavado de la muestra, agregar 4 mL de reactivo de Biuret, se homogeniza la muestra con la ayuda de un bortex por espacio de 1 minuto, de la misma manera son tratados los tubos que contienen el estándar y el blanco. Luego los tubos se llevan al equipo sonificador por 30 minutos para que desarrollen la coloración adecuada.

En un espectrofotómetro, determinar la absorbancia de las soluciones de la preparación de muestra y el estándar, la longitud de onda utilizada para hacer las lecturas es de 540 nm.

Para calcular la cantidad en mg de MAA por cada mL, se hace mediante la siguiente fórmula:

$$2 \left( \frac{Au}{As} \right)$$

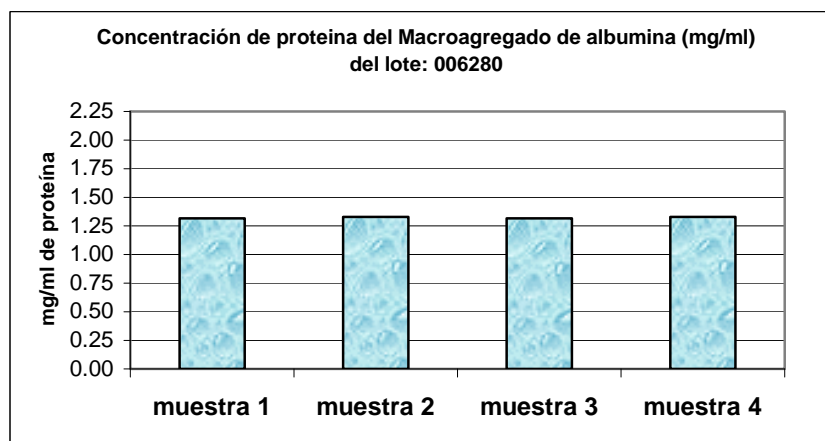
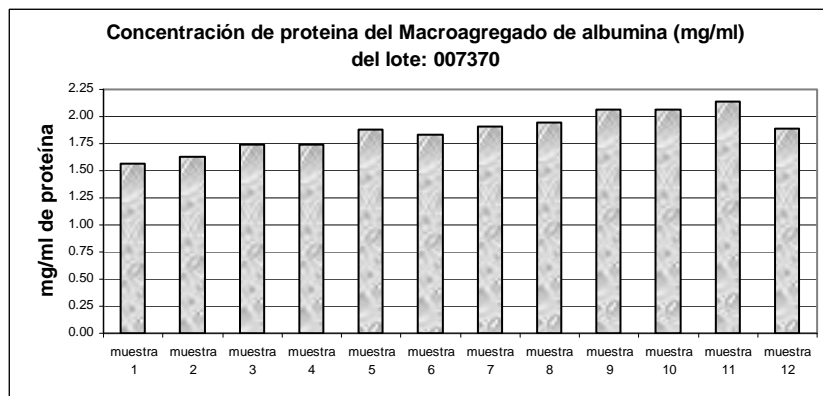
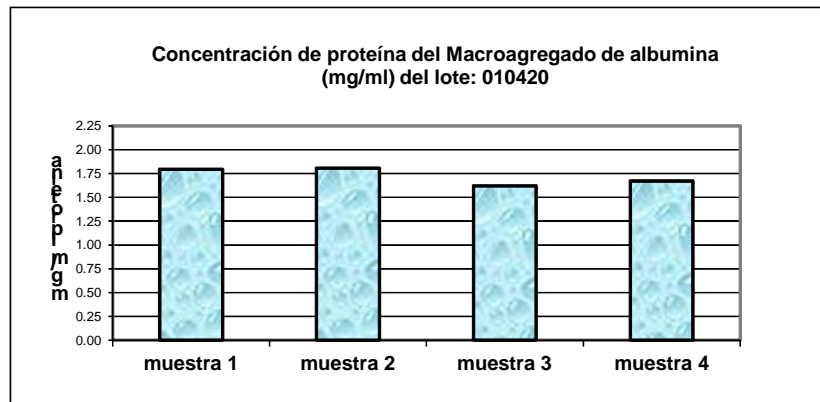
Donde:

**Au:** Absorbancia de las soluciones de los tubos de preparación de la muestra.

**As:** Absorbancia de la solución del estándar.

### 3. RESULTADO

Se obtuvo resultados satisfactorios con la aplicación de la metodología de análisis. Según la formulación de este producto cada vial contiene 1,88 mg de sero albúmina humana y se obtuvieron los siguientes resultados:



Promedios de la concentración de proteína de los tres lotes de producción analizados.

Como se puede observar en las gráficas, todos los valores de los diferentes lotes son casi homogéneos, con ello podemos determinar la cantidad de proteína que está dispensado en cada vial. Si bien hay variantes en las muestras dentro de un mismo lote, puede ser que en el dispensado de estos viales el volumen de solución de MAA no es igual.

#### **4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**

- Mediante esta técnica de análisis, se logra disolver los macroagregados en las muestras a analizar, por lo que evitamos

de esta manera obtener resultados erróneos.

- De esta manera el control de calidad de concentración de proteína que contiene cada vial es de 1,72, 1,87 y 1,32 mg/ mL para los lotes 010420, 007370 y 006280, respectivamente

#### **5. REFERENCIAS**

- [1] Carmona G.; Determinación de proteínas totales en suero humano por el método de Biuret. Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua-León 1999.
- [2] Pharmacopea Americana USP 23.p. 1481, año 2000.