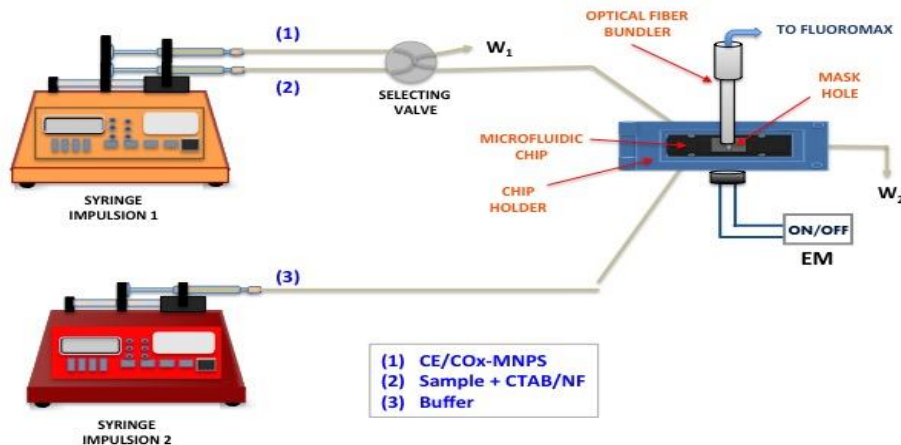


## DETERMINACIÓN FLUORIMÉTRICO-ENZIMÁTICA DE COLESTEROL EN SUERO A ESCALA MICROFLUÍDICA MEDIANTE INMOVILIZACIÓN MAGNÉTICA DE LAS ENZIMAS COLESTEROL ESTERASA Y COLESTEROL OXIDASA

Vanesa Román Pizarro, Juan M. Fernández Romero y Agustina Gómez Hens

Departamento de Química Analítica, Instituto de Química Fina y Nanoquímica (IUQFN-UCO), Campus de Rabanales, Anexo "Marie Curie". Universidad de Córdoba, E-14071, Córdoba España. Email: [ga1feroj@uco.es](mailto:ga1feroj@uco.es)

Se presenta un nuevo método para la determinación de colesterol total en fluidos biológicos a escala microfluídica, basado en la inmovilización y retención magnética en el detector de las enzimas colesterol esterasa (ChE) y colesterol oxidasa (COx) que han sido previamente inmovilizadas sobre nanopartículas magnéticas mediante reacción con un reactivo carbodiimida. El peróxido de hidrógeno formado en la secuencia de reacciones enzimáticas se monitoriza fluorimétricamente utilizando naftofluoresceína como indicador redox.



Después de concentrar las enzimas inmovilizadas en el canal microfluídico en la zona de detección se inserta la muestra junto con un fluoróforo con propiedades redox, naftofluoresceína (NF), y el surfactante bromuro de cetiltrimetilamonio (CTAB). El  $H_2O_2$  formado en la reacción enzimática catalizada por Cox oxida a la naftofluoresceína y provoca una disminución de su fluorescencia que es proporcional a la concentración de colesterol.

El intervalo dinámico es  $74 \mu\text{mol L}^{-1}$  y  $100 \text{mmol L}^{-1}$  expresado como concentración de colesterol total y el límite de detección es  $16 \mu\text{mol L}^{-1}$ . La precisión, expresada en términos de desviación estándar relativa (RSD%) se encuentra en un intervalo entre 0.7 y 4.4 %. La frecuencia de muestreo del método es de  $9 \text{h}^{-1}$ . El método ha sido aplicado para la determinación de colesterol total en muestras de suero obteniendo unos valores de recuperación comprendidos entre 94.5 -101.5 %. Los resultados obtenidos en estos análisis fueron comparados con el método de referencia utilizado en Química Clínica (autoanalizador ILab-600).