

Desenvolvimento e validação de metodologia para determinação de nitrato em plasma humano por Cromatografia de Troca Iônica

Luciane Batistella (IC)*, Rogério M. Dallago (PQ) e Alessandra Dalla Rosa da Veiga (PQ).
batistella.luciane@gmail.com

URI - Campus Erechim - Centro de Ciências Exatas – Av. Sete de Setembro, 1621 – 99700-000 -Erechim – RS

Palavras Chave: Plasma, nitrato, cromatografia

Introdução

O teor de nitrato no sangue apresenta uma relação direta com o NO. O NO, além de vasodilatador, participa ativamente no sistema imunológico, destruindo células tumorais e parasitas intracelulares. Baixos níveis de óxido nítrico (NO) no organismo podem estar relacionados com uma variedade de estados patológicos (doenças cardiovasculares e cerebrais, doenças inflamatórias e infecciosas). Portanto, sua exata quantificação é de vital importância para uma série de interpretações. Este trabalho visou desenvolver e avaliar a determinação de nitrato por cromatografia de troca iônica com detecção condutimétrica/espectrofotométrica. Considerando que a maioria das amostras contendo nitrato, também apresenta outros ânions, em elevadas concentrações (como por ex. o cloreto), que podem interferir na análise, principalmente quando o teor de nitrato presente for baixo (como no caso do plasma sanguíneo $\approx 3,0 \text{ mgL}^{-1}$).

Resultados e Discussão

Inicialmente foi feita uma análise do plasma utilizando-se o cromatógrafo de troca iônica com detecção condutimétrica, para identificar os ânions presentes no sangue (figura 1). O cloreto, devido a elevada concentração prejudica a identificação do nitrato o qual possui tempo de retenção muito próximo ao do cloreto.

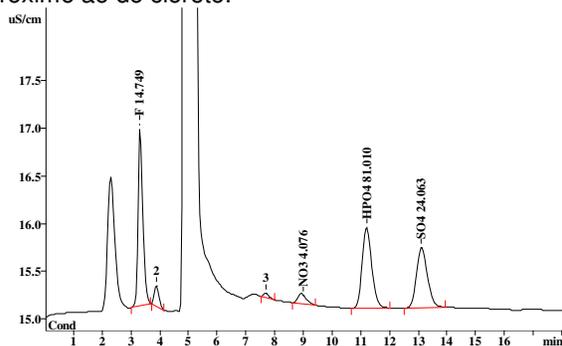


Figura 1 Cromatograma do extrato do plasma humano.

A partir destes resultados foi avaliado a interferência dos íons cloreto (relação $\text{Cl}:\text{NO}_3$) na determinação de nitrato. Para tanto avaliamos um agente mascarante para o cloreto, como sais de prata (sulfato de prata 99,999%). A análise da amostra tratada com Ag_2SO_4 apresentou uma remoção drástica de cloreto ($3,22 \text{ mgL}^{-1}$). No

entanto observamos um aumento significativo de nitrato (de $4,07$ para $14,94 \text{ mgL}^{-1}$), o qual foi vinculado a contaminação do agente mascarante. Neste sentido optou-se por trabalhar com a detecção espectrofotométrica (210 nm), onde a interferência do cloreto é desprezível, uma vez que o mesmo não absorve radiação no comprimento de onda selecionado.

Os ensaios conduzidos empregando o sistema de detecção espectrofotométrico possibilitaram a identificação do nitrato no plasma sanguíneo sem a interferência do cloreto. No entanto, devido a elevada concentração de proteína presente, sua análise direta pode vir a prejudicar a vida útil da coluna. A precipitação seletiva da proteína foi obtida mediante o emprego do metanol, da acetonitrila e do ácido tricloroacético. Destes os melhores resultados foram obtidos para o ácido tricloroacético. No entanto o mesmo apresenta uma elevada contaminação com nitrato, inviabilizando seu emprego com agente precipitante.

Conclusões

A análise do plasma humano demonstrou uma grande quantidade de cloreto o qual se apresentou como um interferente na análise de nitrato. O emprego de agentes mascarantes para o cloreto como sais de prata, apesar de demonstrar eficiência para a remoção deste, interferente devido à presença de nitrato, no resultado final.

O detector espectrofotométrico possibilitou a eliminação da interferência do cloreto sem tratamento prévio. No entanto a presença de proteínas impossibilita sua injeção direta, pois contribui para a redução da vida útil da coluna.

Agradecimentos

A URI – Campus de Erechim, FAPERGS – pelo apoio financeiro.

¹ Kataoka, H.; Trends Anal. Chem. 23, 232 2003.

² Souverain, S.; Rudaz, S.; Veuthey, J. L.; J. Chromatogr., B: Bionted. Sci. Appl. 801, 141, 2004.

³ Lima, V. V., Cassiano, N. M.e Cass, Q. B., Quím. Nov, 29, 72, 2006.