

Construção de um bio-eléctrodo específico para determinação de nitritos

M. GABRIELA ALMEIDA, PEDRO TAVARES E JOSÉ J.G. MOURA*

A actividade experimental a seguir apresentada tem sido demonstrada como trabalho laboratorial da disciplina de Métodos Instrumentais de Análise II, do 3.º ano do Licenciatura em Química Aplicada leccionada no Departamento de Química da Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa. Este protocolo representa, por outro lado, uma transferência directa de conhecimento entre actividades de investigação fundamental em curso nos Grupos de Bioinorgânica e de Bioquímica e Biofísica de Proteínas do Centro de Química Fina e Biotecnologia e a leccionação curricular na secção

de Química-Física e Inorgânica. Portanto, a elaboração deste protocolo e sua realização experimental pelos alunos da licenciatura representa um estímulo para os discentes e um melhor conhecimento da actividade de investigação levada a cabo pelos docentes. A acentuada interdisciplinaridade deste trabalho (introduzindo uma combinação de conceitos analíticos actuais como tecnologia de biosensores e noções importantes de electroquímica e de cinética enzimática) permite inclui-lo no currículo de outras disciplinas, tais como Electroquímica ou Biotecnologia.

1. Introdução

Os sais de nitrito (NO_2^-) e de nitrato (NO_3^-) são aditivos correntemente usados na indústria alimentar, quer como agentes conservantes, quer para melhorar a cor e o sabor de alimentos processados. Os nitratos podem ainda ocorrer nos alimentos de origem vegetal e nas águas potáveis em consequência da sua ampla utilização como fertilizantes na agricultura. A exposição do Homem a níveis importantes destes químicos pode ter implicações graves na saúde pública. A toxicidade advém essencialmente da acção do nitrito na conversão da hemoglobina em metahemoglobina, reduzindo consequentemente a capacidade do sangue transportar o oxigénio; esta situação é especialmente crítica nas crianças, em virtude do menor conteúdo em hemoglobina. A perigosidade do ião nitrito é amplificada pela sua reacção com aminas secundárias existentes nos alimentos, resultando na formação de compostos *N*-nitroso cujos efeitos carcinogéneos são alvo de gran-

de debate. Quanto ao ião nitrato, *per se*, é menos tóxico, mas é facilmente convertido em nitrito por certos microrganismos existentes nas águas e solos, bem como no próprio organismo humano [1-5].

Por outro lado, tanto os nitratos como os nitritos são metabolitos estáveis do óxido nítrico (NO), um importante mediador intra- e intercelular, cujo tempo de vida, nos humanos, é de escassos segundos. Como tal, para monitorizar a produção de NO, é comum proceder-se a análises clínicas dos iões NO_3^- e NO_2^- em fluidos biológicos, tais como a urina e o plasma [5-7].

Pelas razões expostas, a determinação analítica dos nitratos e nitritos em amostras de origem ambiental, clínica e alimentar é, presentemente, um assunto de grande interesse [4,5]. São conhecidas numerosas técnicas para a determinação directa de nitritos (ou indirecta de nitratos, por redução prévia a nitritos), que vão desde os ensaios colorimétricos baseados na reacção de Griess, passan-

do pelos métodos polarográficos e cromatográficos, até à quimiluminescência e à electroforese capilar [3,4]. Todavia, muitas destas técnicas são morosas e complexas, quer ao nível do procedimento experimental quer ao nível da preparação da amostra. Outras desvantagens frequentemente apontadas são a falta de especificidade e/ou de sensibilidade, especialmente quando aplicadas em amostras complexas ou com conteúdo analítico muito baixo [3]. Consequentemente, é essencial encontrar um método analítico que reúna em simultâneo alguns aspectos chave, como a sensibilidade, a especificidade, a rapidez e a simplicidade. Neste contexto, a tecnologia das enzimas imobilizadas surge como uma opção muito atraente para o desenvolvimento de um biosensor capaz de responder às exigências acima mencionadas, especialmente no que concerne à selectividade [8-10]. A figura 1A descreve resumidamente a constituição de um biosensor.

* Departamento de Química, Centro de Química Fina e Biotecnologia, REQUIMTE, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa, 2825-114 Monte de Caparica, Portugal