

Incerteza de medição na determinação de metabólitos de HPA em bÍlis de peixe.

Danielle L. Mendonça (PG)*, Roberta L. S. Neves (PG), Alessandra L. M. Cunha (PQ), Ricardo Q. Aucélio (PQ), Roberta L. Ziulli (PQ). danielle100@gmail.com

Laboratório de Estudos Ambientais, Departamento de Química, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, Rua Marquês de São Vicente, 225, 22453 900, Rio de Janeiro. RJ.

Palavras Chave: incerteza de medição, 1-hidroxipireno, HPLC, fluorescência.

Introdução

Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA) estão entre os mais importantes poluentes ambientais. Grande parte deles é carcinogênico e/ou mutagênico e uma das fontes destes compostos para o meio ambiente aquático são os derramamentos de óleo.

A análise de bÍlis de peixe por espectroscopia de fluorescência (FF) vem sendo usada com sucesso no monitoramento preliminar destes compostos. Por ser uma técnica semi-quantitativa, é excelente para a detecção rápida de níveis totais de HPA, porém é menos apropriada para a determinação de compostos individuais, sendo mais indicada a técnica de cromatografia a líquido de alta eficiência com detecção por fluorescência (HPLC-F). Como os peixes e outros vertebrados marinhos biotransformam HPA rapidamente gerando compostos conjugados que se acumulam na bÍlis, medir metabólitos de HPA fornece meios de determinar a exposição dos mesmos a fontes de contaminação. Porém, a análise convencional por HPLC de fase reversa não é muito adequada para a análise de metabólitos conjugados, já que estes são muito polares e não apresentam praticamente nenhuma retenção. Após hidrólise enzimática, os metabólitos deconjugados, menos polares, podem ser separados por esta técnica¹.

Para garantir que um método gere informações confiáveis e interpretáveis, ele deve ser rigorosamente avaliado². A incerteza de medição tem grande importância na validação de métodos em Química Analítica. Assim, o objetivo deste estudo é comparar as incertezas associadas à detecção de HPA em bÍlis de peixe por FF e HPLC-F. Será usado como substância de referência o 1-hidroxipireno, o metabólito de HPA mais comumente encontrado na bÍlis de peixe.

Resultados e Discussão

Neste trabalho, as incertezas foram estimadas de acordo com o Guia para a Expressão da Incerteza de Medição³ que estabelece que para estimar a incerteza de medição, é necessário identificar as variáveis que contribuem para a incerteza e seus

valores. Após identificação das fontes de incerteza e consideradas as suas contribuições, estima-se a incerteza padrão combinada pela raiz quadrada da soma quadrática das incertezas padrão. As fontes

de incerteza contempladas neste trabalho para ambos os métodos foram: incertezas das concentrações padrão, da curva analítica, da repetitividade e da reprodutibilidade. As contribuições de cada fonte e a incerteza combinada estão listadas na Tabela 1. Pode-se observar que as maiores contribuições para a incerteza combinada foram as incertezas associadas à reprodutibilidade. Podemos observar também que a incerteza combinada para a fluorescência é maior que para a cromatografia.

Tabela 1. Fontes de incerteza da medição.

Fontes de incerteza	FF	HPLC-F
Concentrações padrão (ng mL ⁻¹)	0,1949	0,3046
Curva analítica (ng mL ⁻¹)	0,2077	0,3082
Repetitividade (ng mL ⁻¹)	0,1775	0,0588
Reprodutibilidade (ng mL ⁻¹)	0,8952	0,4389
Incerteza combinada (ng mL ⁻¹)	0,9561	0,6196

Conclusões

A reprodutibilidade foi a fonte de maior contribuição para a incerteza dos dois métodos, sendo a incerteza combinada da fluorescência maior que a da cromatografia. Esta diferença indica um possível efeito de matriz da bÍlis de peixe na espectroscopia de fluorescência, o que não ocorre na cromatografia, já que a mesma promove a separação de alguns compostos presentes na amostra. Testes futuros serão feitos para investigar a influência deste efeito.

Agradecimentos

A CAPES e ao CNPq pelas bolsas concedidas.

¹Ariesse, F.; Burgers, I.; Oudhoff, K.; Rutten, T.; Stroomberg, G.; Vethaak, D. *Comparison of analytical approaches for PAH metabolites in fish bile samples for marine and estuarine*

monitoring **1997**, Vrije Universiteit, Institute for Environmental Studies, pp. 29.

²Ribani, M.; Bottoli, C. *Quim Nova* **2004**, 27, 771.

³Guia para a Expressão da Incerteza de Medição, terceira edição brasileira em língua portuguesa, ABNT, INMETRO, **2003**.