

Investigação do uso de colunas de meio de acesso restrito, com albumina sérica bovina imobilizada, na determinação de glucuronídeos em urina humana

Thaís Corrêa Castral (PG), Quézia Bezerra Cass* (PQ)

*quezia@pq.cnpq.br

Universidade Federal de São Carlos, Rodovia Washington Luís, km 235 - SP-310

São Carlos - São Paulo - Brasil CEP 13565-905

Palavras Chave: urina, RAM, glucuronídeo

Introdução

Colunas de meio de acesso restrito de albumina sérica bovina imobilizada (RAM-BSA) têm sido amplamente empregadas no tratamento *on-line* de amostras complexas uma vez que possibilitam a exclusão de endógenos e a retenção dos analitos de interesse¹. Em urina, a quantificação de glucuronídeos por cromatografia líquida (LC) é realizada a partir de sua hidrólise. Na procura de biomarcadores em toxicologia ocupacional, no entanto, métodos capazes de quantificar o glucuronídeo são necessários. Este trabalho descreve o uso de colunas RAM-BSA para retenção do fenil- β -D-glucuronídeo em urina, sem prévia hidrólise, com injeção direta de amostra.

Resultados e Discussão

Três colunas RAM-BSA foram preparadas de acordo com protocolo já publicado². Considerando a estrutura química do glucuronídeo (figura 1), as colunas RAM-BSA-IEX foram desenvolvidas usando as seguintes sílicas: troca catiônica forte – SCX (50 mm x 2,1 mm) e troca aniônica forte – SAX (50 mm x 2,1 mm).

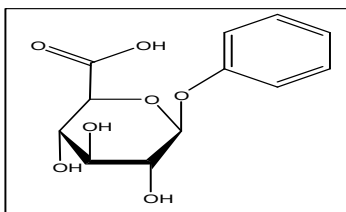


Figura 1: Fenil- β -D-glucuronídeo

A coluna RAM-BSA-C8 (octilsilano - 50 mm x 4,6 mm) foi preparada e avaliada para comparação.

Foi realizado um estudo sistemático para determinação das condições cromatográficas para exclusão das macromoléculas da urina e retenção do glucuronídeo. Comparando as colunas, melhor perfil de exclusão das macromoléculas foi conseguido com a coluna RAM-BSA-SCX. Entretanto, maiores fatores de retenção para o glucuronídeo foram obtidos com as colunas RAM-BSA-C8 e SAX. Estas duas colunas foram, portanto, selecionadas para avaliação do efeito do pH na retenção do glucuronídeo. O gráfico 1 ilustra os resultados obtidos.

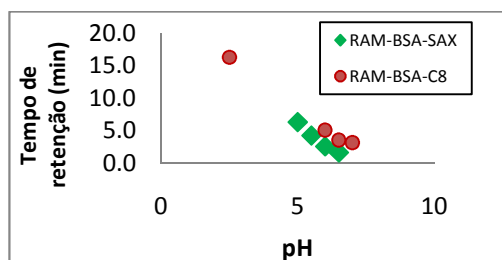


Gráfico 1: Variação de tempo de retenção em função do pH da fase móvel para o fenil- β -D-glucuronídeo

Conclusões

A coluna RAM-BSA-SAX em pH 5 apresentou adequada retenção do glucuronídeo e pode ser utilizada na primeira dimensão de um sistema LC-multidimensional acoplado ao espectrômetro de massas.

Agradecimentos

FAPESP, CNPQ, CAPES

- (1) Cassiano, N. M. et al. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **2006**, 384, 1462-1469.
- (2) de Lima, V. V. et al. *Química Nova* **2006**, 29, 72-78.