

Validação de um método CLAE-FLU usando EFS para determinação de estrógenos em amostras de água do rio Cuiá em João Pessoa-PB

Edilene Dantas T. Moreira^a (PG), Antonio Cícero de Sousa^b (PQ), Anderson da Silva G. Pereira^a (IC), André Luiz da Silva^b (IC), Pablo Nogueira Teles Moreira^a (PG), Mário Cesar Ugulino de Araújo^a (PQ).

*edilene.dtm@gmail.com

^a Universidade Federal da Paraíba – UFPB, ^b Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia da Paraíba-IFPB.

Palavras Chave: Validação, estrógenos, água, CLAE-FLU-EFS.

Introdução

Os estrógenos, ou hormônios estrogênicos, constituem um grupo de compostos biologicamente ativos que se apresentam como alteradores endócrinos (AE's)¹. Devido à maior incidência no meio ambiente e ao alto poder nocivo à saúde, os estrógenos 17 β -estradiol (E2), estriol (E3), estrona (E1) e 17 α -etinilestradiol (EE2) têm despertado grande preocupação. A determinação destes hormônios constitui-se uma tarefa difícil, tamanha complexidade das matrizes e os baixos níveis de concentração (< $\mu\text{g.L}^{-1}$)². Tal tarefa exige métodos analíticos validados com um maior poder de detectabilidade, eficiência e alta resolução³. Neste trabalho foi desenvolvido e validado um método por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência usando detecção por Fluorescência (CLAE-FLU) e Extração em Fase Sólida (EFS) para a determinação simultânea de E3, E2, EE2 e E1 em amostras de água do rio Cuiá da cidade de João Pessoa-PB.

Metodologia Experimental

Foram coletadas seis amostras de água (6L), de um único ponto do rio Cuiá, acidificadas, filtradas (0,45 μm) e submetidas à EFS com cartuchos SAMPLIQ C18: MetOH-HPLC (Condicionamento); MetOH/H₂O – 10/90 (Clean Up); N₂ (secagem) e MetOH/ACN – 50/50 (Eluição). A etapa completa de preparação de cinco amostras foi estimada em 78 minutos. Após extração, as amostras foram fortificadas com três níveis de concentração de estrógenos: baixo; médio e alto. A **Fig. 1** mostra um cromatograma dos estrógenos no nível de fortificação alto com corrida efetivada em 15 minutos.

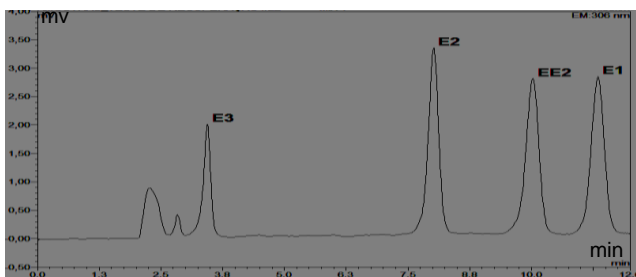


Figura 1. CLAE-FLU de E3, E2, EE2 e E1. Modo Isocrático (50%ACN/50%H₂O), coluna C18:100Å; 5 μ , fluxo de 1 ml/min, λ_{Ex} = 230 nm e λ_{Em} = 306 nm.

34^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química

Resultados e Discussão

Na **Tabela 1** são apresentados os parâmetros estimados de validação. Curvas de calibração de E1 (0,15 a 5,0 mg.L^{-1}) e de E2, E3 e EE2 (3,125 a 100,0 $\mu\text{g.L}^{-1}$) apresentaram boa linearidade ($R^2 > 0,997$). A precisão, a exatidão e a recuperação foram estimadas com medidas de área de pico das amostras fortificadas. LD e LQ se basearam na amplitude de ruído, altura de pico e nível de fortificação baixo de E1, E2 e EE2.

Tabela 1. Parâmetros estimados de validação.

	Nível	DPR (%)	Exat. (%)	Rec. (%)	LD	LQ
E1	Baixo	11,32	98,50	85,47	0,03 (mg.L^{-1})	0,08 (mg.L^{-1})
	Médio			80,27		
	Alto			87,13		
E2	Baixo	10,25	98,66	90,42	0,56 ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	1,69 ($\mu\text{g.L}^{-1}$)
	Médio			80,33		
	Alto			92,8		
EE2	Baixo	7,23	100,35	89,16	0,56 ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	1,69 ($\mu\text{g.L}^{-1}$)
	Médio			86,99		
	Alto			94,72		

Para o E3 não foi possível estimar os parâmetros de validação em virtude da interferência (co-eluição) de substâncias presentes nas amostras reais. Os resultados da precisão refletiram a pouca reprodutibilidade das análises, uma vez que as mesmas foram realizadas em dias diferentes e por operadores diferentes o que sugere investigação dessas fontes de incerteza.

Conclusões

Foi validado um método CLAE-FLU usando EFS apenas para a determinação de 17 β -estradiol (E2), estrona (E1) e 17 α -etinilestradiol (EE2). Resultados satisfatórios foram encontrados para a exatidão, recuperação e limites de detecção e quantificação. O tempo total de análise, incluindo a preparação de amostra, não ultrapassou 32 minutos por amostra.

Agradecimentos

Ao CNPQ, INCTAA e LAQA/UFPB

¹ VERBINNEM, R. T.; et al. *Quim. Nova.*, **2010**,33(9), 1837-1842.

² FILHO, R. W. R.; et al. *Quim. Nova.*, **2006**, 29(4), 817-822.

³ LANÇAS, F.. *Cromatografia Líquida Modern:HPLC/CLAE*. Campinas-SP: Átomo, **2009**.