

Determinação de ácido *t,t*-mucônico urinário por HPLC-DAD utilizando uma coluna de troca iônica (Aminex[®] HPLC Column, Bio-Rad)

Rafaela P. Gomes¹ (IC), Fabiana A. Lobo¹ (PQ), Robson J. F. Afonso¹ (PQ), Mauricio X. Coutrim¹ (PQ)*

¹Depart. Química, Univ. Federal de Ouro Preto (UFOP), Campus Morro do Cruzeiro, s/n, 35400-000 Ouro Preto, MG. *mcoutrim@iceb.ufop.br.

Palavras Chave: ácido *t,t*-mucônico, benzeno, indicador biológico de exposição (IBE), coluna Aminex HPX-87H.

Introdução

O ácido *t,t*-mucônico (ATTM) é um produto de biotransformação do benzeno preconizado legalmente¹ no Brasil como um indicador biológico de exposição (IBE) para avaliar exposição ao benzeno, uma substância comprovadamente carcinogênica onipresente na atmosfera.

Os métodos utilizados para a determinação de ATTM urinário majoritariamente indicam sua extração da matriz com uma fase sólida (SPE) trocadora aniônica forte (SAX) e posterior análise por HPLC empregando coluna C18. A coluna Aminex HPX-87H, de troca iônica, muito utilizada para análise de ácidos carboxílicos voláteis em diversas matrizes, não tem sido indicada na literatura para análise de ATTM urinário.

Nesse trabalho um método cromatográfico utilizando uma coluna Aminex HPX-87H para a determinação de ATTM urinário, previamente extraído da urina em fase sólida (SPE), foi desenvolvido e validado.

Resultados e Discussão

As condições de extração (volume inicial e tamponamento da amostra, lavagem do cartucho com ATTM e volume final da solução com extrato) foram otimizadas com ajuda de um planejamento fatorial 2⁴⁻¹ e, assim, o ATTM foi extraído de 3 mL da urina, previamente filtrada (0,22 µm), em cartucho Strata SAX[®] 500mg, Phenomenex (forte trocadora de ânions). O cartucho de SPE foi lavado com 3 mL de ácido acético (HAc) 1%,v/v, o ATTM foi eluído com 5 mL HAc 10%,v/v, e 20 µL foram injetados na coluna de troca iônica (Aminex HPX-87H 300 mm x 7,8 mm, 9µm), utilizando como fase móvel isocrática a 55 °C, ácido sulfúrico 0,01 mol.L⁻¹ a 0,6 mL.min⁻¹. A quantificação do ATTM por calibração externa utilizou a detecção por UV com arranjo de diodos (DAD) a 264 nm.

A comparação entre os coeficientes angulares das curvas analíticas obtidas em solução aquosa e em urina mostrou que a matriz deprecia o sinal do ATTM em cerca de 50% e, assim, as curvas analíticas foram sempre confeccionadas a partir de soluções padrão em *pool* de urina (10 amostras) contendo ATTM em baixa concentração (Fig. 1).

Na validação do método, a seletividade foi baseada nos tempos de retenção de ATTM padrão e nos espectros de absorção molecular (DAD) dos ATTM nas amostras. A linearidade de curvas analíticas com concentrações de ATTM entre 5 e 500 µg.L⁻¹ construídas em água apresentaram coeficientes de determinação (r^2) superiores a 0,99, enquanto que, em *pool* de urina o $r^2 > 0,95$. Porém, os ajustes quadráticos apresentaram $r^2 > 0,99$. Os coeficientes de variação (CV) de repetibilidades de sete replicatas foram inferiores a 3,6% enquanto que a recuperação de ATTM de soluções com 5, 25, 50 e 100 µg.L⁻¹ estiveram entre 85 e 90%, demonstrando que o método apresenta precisão e exatidão adequadas. O ruído médio de cromatogramas de amostras foi utilizado para se obter o limite de detecção (LD) e quantificação (LQ) de 0,11 µg.L⁻¹ e 0,36 µg.L⁻¹, respectivamente.

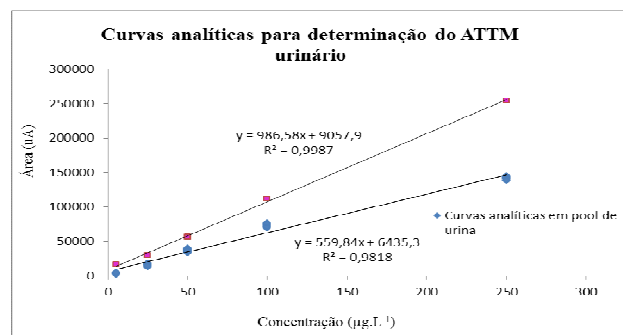


Figura 1. Curvas analíticas para determinação de ATTM urinário por HPLC-DAD, utilizando padrões em água (■) e em urina (◆).

Conclusões

O método para a determinação de ATTM urinário utilizando coluna Aminex HPX-87H, não relatada na literatura para essa determinação, apresentou valores adequados para todos os parâmetros de validação testados.

Agradecimentos

Programa PIVIC, UFOP.

¹ Brasil, Ministério do Trabalho e Emprego, Protocolo para a utilização de IBE ocupacional ao benzeno, Portaria 34, 20/12/2001, em: <http://portal.mte.gov.br/legislacao/portaria-n-34-de-20-12-2001-1.htm>.