

Otimização e validação de metodologia analítica para determinação de hormônios sintéticos em águas superficiais

Bruna dos Reis Monteiro (IC), Sandro José de Andrade (PQ)*

*sandroandrade@unifei.edu.br

Universidade Federal de Itajubá, Av. BPS, 1303 – bairro Pinheirinho, CEP: 37500-903, Itajubá/MG

Palavras Chave: validação, metodologia analítica, hormônios, água

Introdução

A sociedade moderna adotou um sistema de desenvolvimento que não tem levado em conta os impactos ao meio ambiente¹. Recentemente, muitas substâncias lançadas nos corpos d'água têm sido estudadas devido a sua capacidade de causar alterações nos sistemas endócrinos dos seres vivos. O hormônio sintético 17-alfa-etinilestradiol é reconhecidamente um potente interferente endócrino. Este hormônio é usualmente utilizado como um dos princípios ativos das pílulas anticoncepcionais, muitas vezes, associado ao levonorgestrel. Como o destino destas substâncias são, muitas vezes, os corpos d'água, uma metodologia analítica confiável se faz necessária para a quantificação destas espécies. Diante disso, este trabalho teve como objetivo a otimização e validação de uma metodologia analítica para determinação dos hormônios sintéticos 17-alfa-etinilestradiol e levonorgestrel em águas superficiais.

Resultados e Discussão

Durante o trabalho de otimização da metodologia analítica constatou-se que as melhores condições cromatográficas foram as seguintes:

Fase móvel: acetonitrila:água (60:40) – isocrático; Vazão da fase móvel: 0,5 mL min⁻¹; Volume de injeção: 10 µL; Temperatura da coluna cromatográfica: 45 °C; Comprimento de onda do detector UV: 240 nm; Comprimentos de onda do detector de fluorescência: λ_{ex} – 230 nm e λ_{em} – 310 nm. Nessas condições cromatográficas, utilizando o sistema de cromatografia líquida de alta eficiência Agilent® e coluna cromatográfica Eclipse Plus C8 (4,6 mm x 150 mm – 5 µm), os tempos de retenção para o 17-alfa-etinilestradiol e levonorgestrel foram 5,25 e 7,00 minutos, respectivamente. Essa metodologia analítica foi validada de acordo com o trabalho de Ribani e colaboradores². As soluções-estoque utilizadas na validação foram preparadas em metanol na concentração de 100 ppm. Um planejamento de experimento foi montado no Minitab 16 para os estudos de recuperação do método. Variou-se o pH da água (4 e 8), o eluente (acetato de etila e metanol) e a vazão da amostra

pelo cartucho C18 (5 e 10 mL min⁻¹). Água deionizada foi fortificada com os padrões numa concentração de 0,5 ppb. Obteve-se recuperação de 94,1% com a condição de pH = 4, metanol como eluente e vazão de 10 mL min⁻¹. Para verificação da seletividade, 1 L de água foi eluído pelo cartucho C18. A metodologia se mostrou seletiva, pois nenhum pico aparece próximo ao tempo de retenção dos analitos. Na avaliação da linearidade, soluções foram obtidas a partir das soluções-estoque. A metodologia se mostrou linear de 50 ppb a 1000 ppb para o 17-alfa-etinilestradiol (detector de fluorescência) e de 100 ppb a 1000 ppb para o levonorgestrel (detector ultravioleta). O teste de precisão intra-corrída apresentou coeficiente de variação (CV) de 5,5% para o 17-alfa-etinilestradiol e de 1,1% para o levonorgestrel. Na precisão inter-corrída, não houve diferença significativa, para uma confiança de 95%, entre os resultados de dois analistas em dias diferentes. Isso foi comprovado através do Teste t e do Teste F. A exatidão foi realizada em três níveis de fortificação (200, 400 e 600 ppb). Obteve-se exatidão média de 104,5% para o 17-alfa-etinilestradiol e 98,7% para o levonorgestrel. Os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) para o 17-alfa-etinilestradiol foram 50 e 150 ppb, respectivamente. Para o levonorgestrel, o LD foi de 100 ppb e o LQ foi de 300 ppb. A metodologia se mostrou robusta quando variou-se os parâmetros cromatográficos em ±5%, com recuperação ente 90 e 110%.

Conclusões

A metodologia otimizada e validada se mostrou satisfatória em relação a todos os parâmetros e, futuramente, com a continuidade do trabalho, será utilizada para a quantificação de hormônios em águas superficiais no Rio Sapucaí em Itajubá/MG.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao CNPq (Processo: 409943/2013-4), à FAPEMIG e à Rede Mineira de Química (RQ-MG) pelo suporte financeiro ao projeto.

¹ Ghiselli, G.; Jardim, W. F. *Quim. Nova* **2007**, *30*, 695.

² Ribani, M.; Bottoli, C. B. G.; Collins, C. H.; Jardim, I. C. S. F.; Melo, L. F. C. *Quim. Nova* **2004**, *27*, 771.