

## XIV Salão Iniciação Científica da PUCRS

### Desenvolvimento e Validação de Método Analítico para Determinação de Hidroxipireno em Líquido Amniótico

Priscila de Campos Graffetti<sup>1</sup>, Flavia Valladão Thiesen<sup>1</sup>, Paula Boeira<sup>1</sup>, Bianca Leonardi<sup>2</sup>, Aline Rigon Zimmer<sup>2</sup>, Pedro Froelich<sup>2</sup>, Júlia de Barros Machado<sup>3</sup>, José Miguel Chatkin<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>Faculdade de Farmácia, PUCRS, <sup>2</sup>Faculdade de Farmácia, UFRGS, <sup>3</sup>Faculdade de Medicina, PUCRS

#### Resumo

**Objetivo:** Desenvolver e validar uma metodologia para determinação de 1-hidroxipireno em líquido amniótico por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com detector de fluorescência (CLAE-DF). Verificar a exposição de recém-nascidos durante o período fetal a compostos carcinogênicos oriundos da combustão de cigarros.

**Metodologia:** Foram preparados calibradores de hidroxipireno em líquido amniótico em concentrações de 0,25 a 15,0 ng/mL (n=8). Uma alíquota de 2,0 mL de líquido amniótico foi pipetada em tubos de 9 mL e foram adicionados 2,0 mL de tampão acetato pH 5,0 e 20 uL de enzima  $\beta$ -glicuronidase. Os tubos foram agitados por 30 segundos e incubados a 37°C por 2 horas. A seguir, as amostras foram resfriadas a temperatura ambiente e foram adicionados 4,0 mL de éter etílico. As soluções foram homogeneizadas por inversão, agitadas por 1 minuto e centrifugadas. Após, a fase orgânica foi transferida para frasco evaporador. Repetiram-se os passos da extração e a fase orgânica foi transferida para o mesmo frasco evaporador. Evaporaram-se as amostras sob corrente de ar comprimido a 37°C, o extrato seco foi reconstituído com 250 uL de metanol HPLC e 50 uL deste extrato foi injetado no CLAE-DF. Foram testados dois solventes de extração (acetato de etila e éter etílico), dois tempos de incubação com a enzima  $\beta$ -glicuronidase (2 e 4 horas) e dois volumes de solvente para extração (2x2 mL e 2x4 mL de éter). Foram avaliadas linearidade, precisão intermediária, recuperação, robustez e sensibilidade do método.

**Resultados:** Foi possível a separação dos analitos em corrida cromatográfica de 30 minutos, com tempo de retenção de 4,0 minutos para o 1-hidroxipireno. A curva de calibração apresentou linearidade adequada com  $r = 0,997$ . Os valores de precisão intermediária CV(%) foram de 8,7 a 10,4, recuperação de 96 a 99,6%, limite de quantificação de 0,19 ng/mL e de detecção de 0,06 ng/mL. Os testes com solventes mostraram que a extração com éter 2x4 mL foi mais eficiente e os tempo de incubação não apresentaram diferença. Para análise da robustez foram testadas quatro marcas diferentes de éter etílico na extração, sendo que duas marcas apresentaram eficiência de extração inferior.

**Conclusão:** Foi desenvolvido um método simples, rápido e de baixo custo, que poderá ser utilizado para a quantificação de 1-hidroxipireno em líquido amniótico.

**Palavras-chave:** 1-hidroxipireno; tabagismo; gestantes; exposição fetal; hidrocarbonetos policíclicos aromáticos.

APOIO: FAPERGS e CNPq