

VALIDAÇÃO DA DOSAGEM DE ETANOL PELO MÉTODO DE CG-FID E TÉCNICA DE SEPARAÇÃO POR HEADSPACE EM AMOSTRAS DE SANGUE E URINA

Karen Gabriela Norato dos Santos, Vilma Leyton, Edgar Matias Bach Hi
Área Temática: Biomedicina

RESUMO

O etanol é a droga psicoativa mais utilizada de forma abusiva em todo o mundo (MALBERGIER, 2003). O conhecimento sobre a estabilidade desta substância psicoativa em fluidos biológicos é crucial para uma correta interpretação dos resultados analíticos. O desenvolvimento de um método analítico, a adaptação ou implementação de método conhecido, envolve processo de avaliação que estime sua eficiência na rotina do laboratório, esse processo chama-se validação. (JIMENEZ et al., 2004). A precisão na medida da concentração de etanol é de fundamental importância, pois um resultado errôneo pode evitar a administração da justiça em delitos envolvendo o consumo de bebidas alcoólicas. Desta forma, é importante para qualquer laboratório responsável por medir concentrações de álcool no sangue, principalmente os laboratórios de interesse forense, dispor de métodos precisos, rápidos e eficientes que sejam validados de acordo com as normas prescritas, garantindo a qualidade das análises. (INMETRO 2003) Determinado método é considerado validado se suas características estiverem de acordo com os pré-requisitos estabelecidos. É avaliada a relação entre os resultados experimentais e a resposta do método. O objetivo da validação consiste em demonstrar que o método analítico é adequado para o seu propósito. A validação deve ser considerada quando se desenvolve ou efetua adaptações em metodologias já validadas, inclusão de novas técnicas ou uso de diferentes equipamentos. (BRITO et al., 2003). Os parâmetros que necessitam ser calculados durante o processo de validação podem variar de acordo com o tipo de ensaio (INMETRO 2003). Hoje em dia, headspace associado à técnica de cromatografia em fase gasosa, é o procedimento mais comum para a análise de álcool em amostras de sangue e urina. A cromatografia em fase gasosa, quando utilizada em condições adequadas, permitem identificações com elevado grau de confiança. (CORRÊA, 2008) O objetivo do trabalho é realizar a validação da dosagem de etanol em amostras de sangue e urina pelo método de CG-FID e técnica de separação por headspace. Os parâmetros utilizados no processo de validação cumprindo as exigências das agências credenciadoras foram: Seletividade, curva de calibração, linearidade, precisão, exatidão, limite de detecção (LD), limite de quantificação (LQ), e robustez. (INMETRO 2003) A metodologia utilizada foi a execução do método feito na validação pelo método de CG-FID e técnica de separação por headspace desenvolvida no Laboratório de Toxicologia Forense, Departamento de Medicina Legal, Ética Médica e Medicina Social e do Trabalho do HC – FMUSP com amostras de sangue e urina. O princípio da técnica é pelo aumento de temperatura, tempo e um compartimento fechado, onde as substâncias voláteis, vão se deslocar da matriz para o espaço de gás disponível (YONAMINE, 2003; CORRÊA, 2008). Em um vial foi adicionado em proporções iguais (500 µL), a amostra e o padrão interno (n-propanol). Este vial foi lacrado e colocado no headspace. O frasco foi incubado a 70°C durante 10 minutos, ocorrendo uma evaporação do álcool presente na amostra, de modo com que o álcool existente na amostra entre em equilíbrio com a fase gasosa. Após a incubação do frasco e a vaporização da amostra, o gás obtido é injetado no equipamento de Cromatografia Gasosa. A quantificação do álcool foi realizada através de uma curva-padrão de etanol e comparada a concentração de etanol (g/L) com a relação de área do etanol/padrão interno (n-propanol). A curva de calibração foi construída a partir de 6 pontos de concentrações conhecidas (0,195g/L, 0,39g/L, 0,78g/L, 1,95g/L, 2,34g/L e 3,9g/L). Até o presente momento só foram obtidos e analisados os resultados pertinentes a dosagem de etanol em amostra sanguínea.

REFERÊNCIAS

- CORRÊA, Cristiana Leslie. etanol: determinação de etanol em sangue por cromatografia gasosa com detector de ionização em chama. in: moreau, Regina Lúcia de Moraes; SIQUEIRA, Maria Elisa Pereira Bastos. Toxicologia Analítica. Rio de Janeiro (Brasil). Guanabara Koogan. 2008. Cap. 29. p. 248 –252.
- BRITO, N. M., JUNIOR, O. P. D. A., POLESE, L., e RIBEIRO, M. L. Validação de Métodos Analíticos: Estratégia e Discussão. Pesticidas : Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente , v.13, p.129-146, 2003.
- INMETRO. Orientações sobre Validação de Métodos de Ensaio Químicos, DOQ- CGCRE-008. 2003.
- COLLINS, C. H., BRAGA, G. L., e BONATO, P. S. Introdução a métodos cromatográficos, 5 ed., Editora da Unicamp, 1993.
- YONAMINE M et al. Solid-phase micro-extraction-gas chromatography-mass spectrometry and headspace-gas chromatography of tetrahydrocannabinol,amphetamine, methamphetamine, cocaine and ethanol in saliva samples. Journal of Chromatography B 2003;789(1):73-8.
- JIMENEZ, C.; BENTURA, R.; SEGURA, J.; DE LA TORRE, R. Protocols for stability and homogeneity studies of drugs for its application to doping control. Analytica Chimica Acta v.515, p. 323-331, 2004.
- SCIVOLETTO, S.; MALBERGIER A. Etanol. In: OGA, SEIZI. Fundamentos de Toxicologia.2.ed.Rio de Janeiro: Atheneu, 2003.p.272-285.