

PREPARO DE CONTROLE DE QUALIDADE INTERNO EM URINA PARA METABÓLITOS DO BENZENO E TOLUENO

Ana P. S. Macedo¹, Larissa de M. Cavalcante^{1,2}, Letícia S. B. Pereira^{1,2}, Beatriz C. S. da Cruz^{1,3}, Vanessa E. Dabkiewicz¹, Liliane R. Teixeira¹, Thelma Pavesi¹, Júlio C. S. Rosa¹

1- Centro de Estudo da Saúde do Trabalhador e Ecologia Humana (CESTEH), Fundação Oswaldo Cruz – Fiocruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil

2- Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

3- Universidade Federal Fluminense (UFF), Niterói, RJ, Brasil

Palavras-Chave: Monitoramento biológico; Exposição ocupacional; BTEX.

Introdução

O benzeno e o tolueno são compostos orgânicos voláteis provenientes de fontes naturais ou antrópicas, presentes em regiões com a presença de indústrias, cidades populosas e em locais que fazem uso do petróleo e seus derivados (Zahed *et al.*, 2024). A intoxicação por essas substâncias pode se dar por meio da inalação, ingestão ou absorção cutânea (Moridzadeh *et al.*, 2020). Por representarem um perigo à saúde, é preconizado o monitoramento biológico de pessoas com suspeita de exposição. Um dos métodos para essa avaliação é a determinação de marcadores de exposição presentes na matriz biológica do indivíduo (Lovreglio *et al.*, 2018). A urina costuma ser a matriz de escolha, por não necessitar de métodos invasivos de coleta e conter os metabólitos utilizados como marcadores de exposição. Os biomarcadores de escolha para o benzeno são o ácido trans-trans mucônico (ATTM) e o ácido s-fenil mercaptúrico (SPMA), enquanto para o tolueno é utilizado o ácido s-benzil mercaptúrico (SBMA) (Brasil, 2022). Dentre os parâmetros, a avaliação da recuperação é fundamental para avaliar a exatidão, ou seja, se o resultado da análise está de acordo com a concentração real presente na amostra. Um material de referência é fundamental para avaliar os parâmetros de recuperação no processo de validação em substituição de amostras de controle de qualidade na rotina de uma determinação analítica. Esse estudo teve como objetivo avaliar a adição de analitos com um solvente miscível na urina, solubilizando-os, gerando uma matriz autêntica com metabólitos de concentração conhecida para controle de qualidade de uso interno do laboratório e consequentemente o estudo da estabilidade dessas substâncias.

Material e Métodos

Para o processo de fortificação das amostras, alíquotas dos padrões ATTM, SPMA e SBMA em acetona grau HPLC foram adicionadas a frascos de 50 mL de urina em três níveis de concentração, baixo (0,5 mg/L), médio (1,0 mg/L) e alto (2,0 mg/L). O método de extração e análise das amostras foi realizado conforme método 8326 da NIOSH (NMAM, 2014), utilizando cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), com detector de arranjo de diodos (DAD). As urinas fortificadas foram submetidas ao procedimento de extração por SPE com auxílio de um *Manifold*, levadas para evaporação com auxílio de gás nitrogênio e reconstituídas para injeção no cromatógrafo.

Resultados e Discussão

Todos os níveis avaliados se enquadraram dentro dos critérios para a faixa de concentração avaliada, que foi de 1 ppm (mg/kg), com uma faixa aceitável de 80% a 110% de recuperação (INMETRO, 2020). A análise encontrou exatidão aceitável para todos os níveis de ATTM, SPMA e SBMA com concordância entre os valores recuperados nas amostras quando comparado com o valor fortificado. As recuperações médias foram descritas no quadro 1:

Quadro 1: Recuperações médias de acordo com o nível de concentração:

Metabólito	Nível Baixo (0,5 mg/L)	Nível Médio (1,0 mg/L)	Nível Alto (2,0 mg/L)
ATTM	95% a 108%	95% a 105%	98% a 107%
SPMA	95% a 110%	98% a 110%	95% a 106%
SBMA	94% a 109%	96% a 107%	98% a 105%

Fonte: Autores, 2024.

A orientação do INMETRO reitera que aspectos da fortificação podem alterar a recuperação, uma vez que os analitos adicionados não estão presentes necessariamente no mesmo formato que numa amostra original e sim em solvente que pode facilitar a sua disponibilidade para extração. Neste estudo, esse fator foi controlado ao fazer a secagem prévia do solvente onde estavam os analitos (acetona) na urina antes de realizar a extração por SPE. Dessa forma, evitou-se interferências devido à miscibilidade do solvente na urina, bem como a interferência do solvente da fortificação com o sorvente do SPE durante a etapa de extração.

Conclusões

O resultado da recuperação média das substâncias nas faixas de recuperação analisadas atendeu a orientação sobre validação de métodos analíticos do Inmetro (2020). Há que se atentar a aspectos que possam influenciar na recuperação, como a miscibilidade do solvente em urina na etapa de extração, uma vez que o solvente em que se encontra o analito pode influenciar em extrações líquido-líquido e na SPE.

Agradecimentos:

Ana Paula agradece a CAPES Brasil (Código de Financiamento 001); Letícia Pereira e Larissa Cavalcante ao CNPq (projeto ENSP-024-Fio-21-2-2) e agradecemos a Débora Gerônimo.

Referências

BRASIL. NORMA REGULAMENTADORA 7. NR7-programa de controle médico de saúde ocupacional-PCMSO. Esta Norma Regulamentadora - NR estabelece diretrizes e requisitos para o desenvolvimento do Programa de Controle Médico de Saúde Ocupacional - PCMSO nas organizações, com o objetivo de proteger e preservar a saúde de seus empregados em relação aos riscos ocupacionais, conforme avaliação de riscos do Programa de Gerenciamento de Risco - PGR da organização. Brasília, DF, 10 mar. 2022. Disponível em: <https://www.gov.br/trabalho-e-emprego/pt-br/acesso-a-informacao/participacao-social/conselhos-e-orgaos-colegiados/comissao-tripartite-partitaria-permanente/normas-regulamentadora/normas-regulamentadoras-vigentes/norma-regulamentadora-no-7-nr-7>. Acesso em: 15 fev. 2024.

INMETRO. **ORIENTAÇÃO SOBRE VALIDAÇÃO DE MÉTODOS ANALÍTICOS**. [S. l.: s. n.], jun. 2020.

LOVREGGIO, P. *et al.* Biological monitoring of exposure to low concentrations of benzene in workers at a metallurgical coke production plant: new insights into S-phenylmercapturic acid and urinary benzene. **Biomarkers**, [S. l.], v. 23, n. 1, p. 70–77, 2 jan. 2018.



MORIDZADEH, M. *et al.* Assessing BTEX exposure among workers of the second largest natural gas reserve in the world: a biomonitoring approach. **Environmental Science and Pollution Research International**, [S. l.], v. 27, n. 35, p. 44519–44527, dez. 2020.

NMAM. **Method: 8326, Issue 1: S-Benzylmercapturic acid and S-phenylmercapturic acid in urine**. [S. l.]: NIOSH Manual of Analytical Methods, maio 2014. . Acesso em: 23 set. 2024.

RIBANI, M. *et al.* Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova**, [S. l.], v. 27, n. 5, p. 771–780, out. 2004.

ZAHED, M. A. *et al.* Risk assessment of Benzene, Toluene, Ethyl benzene, and Xylene (BTEX) in the atmospheric air around the world: A review. **Toxicology in Vitro**, [S. l.], v. 98, p. 105825, 1 jun. 2024.