

Otimização e aplicação de metodologia analítica para determinação de resíduos de antibióticos em mel por DLLME e UFLC-DAD-ESI/MS.

Ana C. B. de A. Santana^{1,2} (PG), Marta V. A. Santana³ (PQ), Pedro A. de P. Pereira^{1,4} (PQ)*, *pedroapp@ufba.br

¹Instituto de Química, Universidade Federal da Bahia, Campus Universitário de Ondina, 40.170-290, Salvador-BA

²Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia da Bahia, Campus Barreiras, Rua das Várzeas s/n, Barreiras-BA

³Universidade do Estado da Bahia, Rua Silveira Martins, 2555, Salvador-BA, 41.150-000, Salvador-BA

⁴INCT de Energia e Ambiente, UFBA, 40270-115, Salvador-BA

Palavras Chave: Mel, resíduos, antibióticos, DLLME, UFLC-DAD-ESI/MS.

Introdução

O mel para consumo humano, destinado ao comércio nacional e internacional, deve atender a um conjunto de requisitos de qualidade físico-química e ter garantias de que o produto não apresente resíduos. Por definição, os resíduos são princípios ativos e seus metabólitos que permanecem nos gêneros alimentares, provenientes de animais aos quais tenham sido administrados medicamentos veterinários¹. Este trabalho teve como objetivo o desenvolvimento e aplicação de uma metodologia analítica, baseada na DLLME e análise por UFLC-DAD-ESI/MS, para determinar resíduos dos antibióticos oxitetraciclina (OTC), sulfatiazol (STZ), sulfadiazina (SDZ), sulfamerazina (SMRZ), sulfametazina (SMTZ), sulfametoxazol (SMX), sulfadimetoxina (SDM), tetraciclina (TC), e clortetraciclina (CTC) em mel.

Resultados e Discussão

As amostras foram adquiridas no comércio local da cidade de Salvador. A otimização da extração por DLLME foi realizada pelo método multivariado, onde inicialmente foi realizado o planejamento fatorial fracionário e posteriormente o planejamento experimental tipo Box-Behnken que envolveu os seguintes fatores: natureza e volume dos solventes extrator e dispersor, efeito salting-out e pH da amostra. Os valores selecionados foram: acetonitrila como solvente dispersor (500 µL), clorofórmio como solvente extrator (200 µL), adição de 0,4 g de NaCl, pH = 4,0 e centrifugação por 10 min a 3500 rpm, obtendo-se ao final um volume de fase sedimentada de 170 µL. As análises foram realizadas em UFLC-DAD-MS Shimadzu LC-20AD, utilizando-se coluna MSC-18 5.0µm (250 mm x 2,1 mm ID). Os analitos foram confirmados no modo SCAN, a partir dos seguintes íons: SDZ (m/z) = 251; STZ (m/z) = 256; SMRZ (m/z) = 265; OTC (m/z) = 461; SMTZ (m/z) = 279; TC (m/z) = 445; CTC (m/z) = 479; SMX (m/z) = 254 e SDM (m/z) = 311. O método apresentou boa linearidade na faixa dinâmica de 20 a 100 µg kg⁻¹ para as sulfonamidas e 100 a 600 µg kg⁻¹ para as tetraciclinas, com valores de R² superiores a 0,99. As recuperações relativas foram avaliadas em dois níveis de fortificação para as sulfonamidas (50 e 80

µg kg⁻¹) e para as tetraciclinas (200 e 500 µg kg⁻¹) com variação entre 88,5% - 106% e coeficiente de variação entre 3,8 e 12,1%. Na Figura 1 é mostrado um cromatograma de uma amostra de mel "contaminada" com os referidos antibióticos e extraída de acordo com o procedimento otimizado.

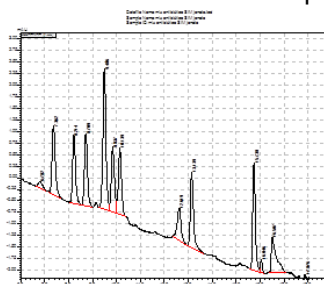


Figura-1: Cromatograma (UFLC-DAD-EIS/MS) de extrato obtido a partir de um spike em mel na concentração de 80 e 200 µg kg⁻¹. O método foi aplicado em 15 amostras, contemplando diversas marcas e procedências. Dentre os nove antibióticos avaliados, resíduos de sulfatiazol foram encontrados em uma das amostras analisadas, com concentração de 26 µg kg⁻¹.

Conclusões

A otimização do método no modo multivariado permitiu avaliar simultaneamente o efeito de diversas variáveis, a partir de um número reduzido de ensaios experimentais. A microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME), quando acoplada à análise por UFLC-DAD-ESI/MS, mostrou-se uma técnica bastante eficaz para a determinação de resíduos de antibióticos em mel, apresentando nesse caso um fator de pré-concentração igual a 200, demonstrando a sua aplicabilidade ainda que os analitos estejam em baixas concentrações. O método desenvolvido apresentou boas linearidade e recuperação, contemplando os valores máximos permitidos estabelecidos pelo MAPA, com limites de quantificação inferiores a estes valores.

Agradecimentos

IFBA, CNPq, FAPESB, FINEP, CAPES, INCT E&A

¹ Sheridan, R.; Policastro, B.; Thomas, S. e Rice, D.; J. Agric. Food Chem. **2008**, 56, 3509.

² Li, J.; Chen, L.; Wang, X.; Jin, H.; Ding, L.; Zhang, K. e Zhang, H. Talanta, **2008**, 75, 1245.