

Estudo de Método Analítico para Determinação de Sulfonamidas em Leite por CLAE via Formação de Azoderivados.

Marcelo Volpato^{1,2} (IC), Ana Maria de Souza Mello¹ (TC), Nair Maria Seibel¹ (TC), João Gabriel Rosa dos Santos¹ (TC) e Luiz Antonio Mazzini Fontoura^{1,2*} (PQ).
lmazzini@uol.com.br

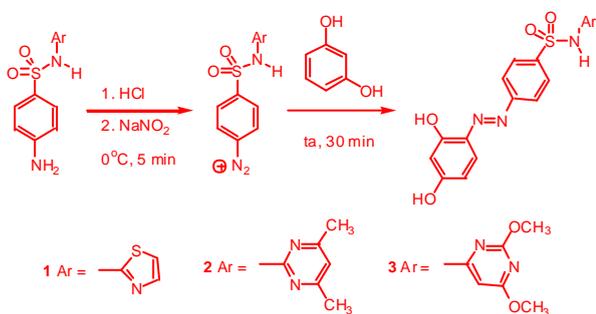
(1) Departamento de Química, Fundação de Ciência e Tecnologia (CIENTEC).

(2) Curso de Química, Universidade Luterana do Brasil (ULBRA)

Palavras Chave: Sulfonamidas, Leite, CLAE.

Introdução

Sulfonamidas são antibióticos, que assim como outros medicamentos, têm sido administrados ao gado leiteiro. Uma consequência desta prática é a ocorrência de resíduos desses medicamentos no leite. Segundo a ANVISA, são controlados sulfatiazol (1), sulfametazina (2) e sulfadimetoxina (3) com um limite máximo de resíduo de 100 µg kg⁻¹ para o somatório dos três fármacos. Um problema freqüente na análise cromatográfica de matrizes complexas como o leite é a presença de interferentes. Quando isso ocorre, uma alternativa é a derivatização do analito. No caso das sulfas, uma maneira é o preparo dos sais de diazônio e o acoplamento com compostos aromáticos formando diazoderivados, os quais absorvem na região do visível.



Esquema 1 – Formação dos diazoderivados de sulfatiazol (1), sulfametazina (2) e sulfadimetoxina (3)

Neste trabalho, descrevemos o procedimento de derivatização de 1-3 via acoplamento dos respectivos sais de diazônio com resorcinol (4), esquema 1, e a pesquisa das condições cromatográficas de análise.

Resultados e Discussão

A extração do analito foi executada em cartuchos EFS Nexus[®]. Um volume de 2 mL de amostra (branca ou fortificada com 100 µg L⁻¹ de cada uma das três sulfas) é adicionado no cartucho de extração. A fase sólida é eluída com metanol. O extrato é seco por adição de sulfato de sódio anidro, filtrado e o solvente evaporado. A derivatização é conduzida nas condições descritas a seguir. O

extrato seco obtido é dissolvido em 0,3 mL de uma solução 20 % de HCl sobre banho de gelo. A seguir, 0,2 mL de NaNO₂ aq. 1 % é adicionado. A mistura é mantida em agitação sobre o banho de gelo por 5 min. Após, 0,5 mL de solução metanólica de resorcinol 1 % é adicionado sobre os demais reagentes. O balão é retirado do banho de gelo e a mistura mantida em agitação a temperatura ambiente por 30 min. Por fim, o líquido contido no balão é filtrado através da membrana de nylon e encaminhado para análise.

Os derivados são analisados por HPLC em coluna analítica Zorbax Eclipse XDB-C8 nas seguintes condições de eluição: MeOH 38 % em KH₂PO₄ aq. 0,01 M com gradiente a partir de 9 min alcançando 50 % em 11 min., a 35 °C, com vazão inicial de 2 mL min⁻¹ crescente até 2,5 mL min⁻¹ em 4 min. O detector é ajustado para leitura a 430 nm. Nestas condições, os derivados de 1, 2 e 3 apresentam t_R de 8,1, 10,5 e 15,3 min respectivamente (figura 1). Ensaio preliminares forneceram recuperações de 74 % para 1, 58 % para 2 e 60 % para 3.

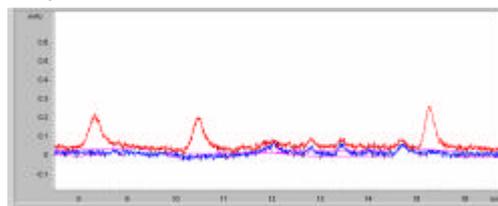


Figura 1 - Cromatogramas de uma amostra de leite branca (azul) e de uma amostra fortificada (vermelha) preparadas por EFS.

Conclusões

A extração do leite em fase sólida seguida da derivatização das sulfonamidas via sal de diazônio possibilitou a obtenção de cromatogramas isentos de interferentes na região no tempo de retenção dos diazoderivados. O método permite recuperações de moderadas a boas para as três sulfas.

Agradecimento

PAMVet-ANVISA.

Sociedade Brasileira de Química (SBQ)

¹Alfare,K., Lee,D., Scharrer,E. e Arman,A.V. *Chem. Educ.*
2004, 9, 89.