Estudo para Desenvolvimento de um Método para Quantificação de Sulfametoxazol e Trimetoprima em Ovos de Galinha: O Efeito da Matriz Biológica.

Fernando C. C. R. de Paula (PG)*, Quezia B. Cass (PQ) – nandocampos82@yahoo.com.br

Departamento de Química, Universidade Federal de São Carlos, Caixa Postal 676, CEP 13565-905, São Carlos, SP.

Palavras Chave: *CLAE, Fases de acesso restrito, Ovos, Sulfametoxazol, Trimetoprima.*

Introdução

O ovo de galinha é uma importante fonte de nutrientes para o ser humano, além de ser um alimento de baixo custo para a população.

Atualmente a preocupação com a presença de resíduos de antibióticos nesta matriz é grande, uma vez que o uso indiscriminado de antibióticos para tratar e prevenir doenças e também para promover o crescimento desses animais tem causado sérios danos à saúde pública, além também de prejuízos de ordem econômica.

Por se tratar de uma matriz bastante complexa, os estudos desenvolvidos envolvem longos e laboriosos pré-tratamentos das amostras[1], a fim de minimizar ao máximo a influência da matriz nos antibióticos avaliados.

Com esse intuito, o uso de colunas de meio de acesso restrito do tipo imobilizada com albumina sérica bovina (RAM-BSA) para o tratamento de amostras de ovos de galinha foi considerado para o desenvolvimento de um método de análise simultânea do sulfametoxazol (SMX) e trimetoprima (TMP) utilizando CLAE-UV multidimensional.

Resultados e Discussão

Durante o desenvolvimento do método, foi verificada uma forte influência da matriz na ionização dos analitos levando a uma baixa precisão nos tempos de retenção dos compostos na coluna RAM-BSA utilizada para extração.

Deste modo, este trabalho teve por objetivo avaliar condições cromatográficas para minimizar a influência da matriz ovo por injeção direta da amostra de ovo para a quantificação de resíduos de SMX/TMP.

Em um estudo anterior [2], uma simples etapa de precipitação e clean-up das proteínas e gorduras utilizando CH_3CN e centrifugação da amostra a 10.000rpm foi desenvolvida para posterior injeção no sistema cromatográfico, minimizando a presença de alguns interferentes e aumentando a vida útil da coluna RAM-BSA.

Levando em consideração este estudo, foram avaliadas fases móveis tanto para a coluna RAM-BSA, responsável pela extração dos analitos, quanto para a coluna analítica responsável pela separação e quantificação dos compostos.

As fases móveis avaliadas para a coluna C_{18}-BSA (10 x 0,46 cm D.I. 10µm) foram: tampão KH_2PO_4 em pH 2,5; 3,5 e 6,0, tampão NH_4Ac em pH 6,0 e ácido trifluoroacético nas concentrações 5, 10 e 50mM.

Como colunas analíticas, foram avaliadas C_{18} e C_8 (15 x 0,46 cm D.I. 10µm, Luna) nos tampões KH_2PO_4 e NH_4Ac em pH 5,0 e em TFA nas concentrações 10 e 50 mM.

O TFA apresentou eficiente exclusão protéica das macromoléculas da matriz ovo e adequada precisão no tempo retenção do SMX/TMP na coluna C_{18}-BSA permitindo o acoplamento com a coluna analítica. Alem disso, o TFA também se mostrou eficaz para obter a separação desejada na coluna analitica C_{18} (Figura 1).

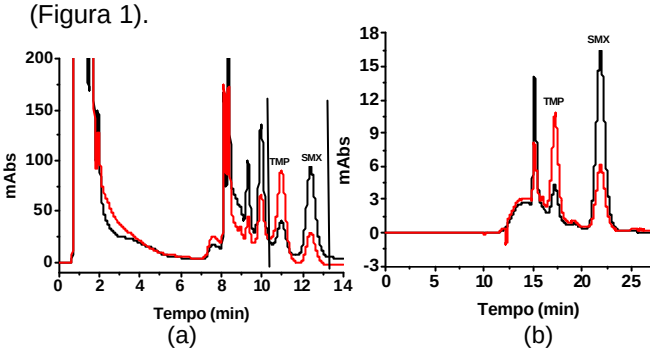

Fig.1. Cromatograma típico (a) exclusão das macromoléculas e extração do SMX/TMP em ovos na coluna C_{18}-BSA e (b) separação do SMX/TMP na coluna analítica C_{18} obtida do acolpamento com a coluna C18-BSA. (—)λ= 269nm e (—) λ= 240nm.

Conclusões

Este trabalho apresentou um estudo das condições cromatográficas para o desenvolvimento de um método de analise simultânea do SMX e da TMP utilizando colunas RAM-BSA no modo multidimensional de análise. Dentre as condições avaliadas apenas o TFA (50mM) foi capaz de minimizar a influência da matriz permitindo o avanço para a validação do método analítico.

Agradecimentos

Os autores agradecem FAPESP, CAPES e CNPq pelas bolsas e suporte financeiro.

[1] Aerts, M.M.L., Hogenboom, A.C., Brinkman, U.A.T. J. Chromatogr. B **1995**, 667, 1.

[2] Paula, F. C. C. R.; Cass, Q.B.. Avaliação de Colunas de Acesso Restrito Imobilizadas com Albumina Sérica Bovina para Exclusão de Proteínas de Ovos de Galinha, 29 Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química **2006**, Águas de Lindoía.