

## Desenvolvimento de Metodologia para Determinação de Avermectinas em Leite por CLAE-FLUO

Lisiane S. Lagêdo<sup>1,2</sup> (PG), Dayana Ellen Ursula S. de Siqueira<sup>2</sup> (IC), Annibal D. Pereira Netto<sup>1,2</sup> (PQ). [lisi.lagedo@gmail.com](mailto:lisi.lagedo@gmail.com); [deusds@gmail.com](mailto:deusds@gmail.com); [annibal@vm.uff](mailto:annibal@vm.uff)

<sup>1</sup> Programa de Pós-Graduação em Química – Instituto de Química, Universidade Federal Fluminense, Outeiro de São João Batista s/n, - Campus do Valonguinho, Centro, Niterói, RJ - CEP: 24.020-141.

<sup>2</sup> Laboratório de Química Analítica Fundamental e Aplicada – Departamento de Química Analítica, Instituto de Química, UFF, Outeiro de São João Batista s/n, - Campus do Valonguinho, Centro, Niterói, RJ - CEP: 24.020-141.

Palavras Chave: Avermectinas, CLAE-FLUO, Separação Cromatográfica.

### Introdução

No cenário atual a pecuária dispõe de diferentes medidas para coibir as infecções nos animais através da utilização de fármacos com ação profilática ou terapêutica. Uma classe importante é a dos antiparasitários. Nas últimas décadas, o uso das Avermectinas tem sido uma das alternativas de tratamento de maior eficácia e de uso frequente por parte dos produtores, pois se trata de um anti-helmíntico de amplo espectro, com ação frente às formas adultas e imaturas de nematóides. Estas substâncias podem remanescer no produto final na forma original. A presença dessas substâncias no alimento representa um potencial risco à saúde do consumidor e métodos que garantam a ausência de substâncias tóxicas em alimentos se tornam cada vez mais imprescindíveis. Para determinação das avermectinas, a derivatização que resulta da adição de um grupo cromóforo é necessária e os derivados têm características apropriadas para detecção em níveis muito baixos de concentração. O objetivo deste trabalho foi otimizar um método de separação cromatográfica para a determinação dos derivados de quatro avermectinas (Eprinomectina, Abamectina, Doramectina e Ivermectina) por cromatografia a líquido de alta eficiência com detecção por fluorescência (CLAE-FLUO).

### Resultados e Discussão

As avermectinas foram derivatizadas como proposto por Berendsen (2007). Em uma solução (200 µL) contendo as quatro avermectinas (50 ppb) foram adicionados 100 µL de N-metilimidazol em acetonitrila (1:1, v/v), 50 µL de trietilamina, 150 µL de ácido trifluoroacético em ACN (1:2, v/v) e 50 µL de ácido acético, seguido por agitação. Imediatamente após a derivatização, os derivados foram analisados por CLAE-FLUO (Agilent, 1100 Series) em coluna Zorbax Eclipse XDB-C8 (150 x 4,6 mm x 5 µm, Agilent) e pré-coluna de mesma especificação. As melhores condições de separação foram obtidas com gradiente de fase móvel composta por 95 % de ACN e 5 % de H<sub>2</sub>O e 95 % de MeOH e 5 % de H<sub>2</sub>O, a uma vazão de 1,2 mL/min, temperatura de 30 °C, e volume de injeção de 50 µL, com tempo total de análise de 12,8 minutos. O sinal de fluorescência foi

avaliado em vários ganhos (Figura 1) para obter maiores áreas para concentrações mais baixas. A Figura 2 apresenta o cromatograma resultante do método desenvolvido. Limites de quantificação de 0,10 µg/L foram obtidos, considerando o volume de amostra extraído e o volume final do extrato (5 mL) e permitem realizar determinação de avermectinas abaixo dos seus LMRs (10,0 a 20 µg/L). As recuperações destas substâncias foram melhores que 87%, indicando o potencial da aplicação deste método em amostras de leite.

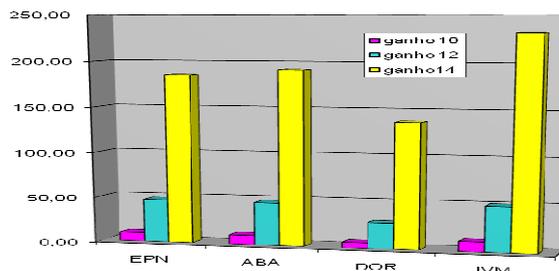


Figura 1. Variação do ganho em função da área obtida para cada avermectina estudada.

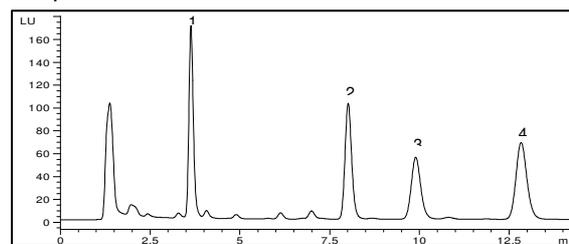


Figura 2. Cromatograma nas condições otimizada, 50 ppb. 1 - eprinomectina, 2 - abamectina, 3 - doramectina, 4 - ivermectina.

### Conclusões

Este método apresenta condições favoráveis para aplicação em amostras reais, tais como leite e seus derivados, após otimização da extração destas substâncias, o que será avaliado futuramente.

### Agradecimentos

CNPQ/MAPA; PROPP-UFF

<sup>1</sup> Berendsen, B. J.A.; Mulder, P. P.J.; van Rhijn, H. J. A. *Analytica Chimica Acta*. 2007, 585, 126–133.