

O Uso de Cromatografia 2D (LC-UHPLC-MS/MS) para Monitoramento de Resíduo de Ampicilina em Leite Bovino.

Franciane Moura (PG), Fernando G. de Almeida (PG), Bianca R. Lopes (PG), Quezia B. Cass (PQ)*.

¹Departamento de Química - Universidade Federal de São Carlos, Caixa Postal 676, CEP 13565-905, São Carlos/SP.
*qbcass@cnpq.br

Palavras Chave: LC-UHPLC-MS/MS, Cromatografia multidimensional, injeção direta, leite bovino

Introdução

O desenvolvimento de novos métodos para a análise e quantificação de fármacos e seus metabólitos em fluidos biológicos é de grande interesse em diversas áreas do conhecimento. O pré-tratamento de matrizes complexas é uma etapa fundamental para quantificação de compostos em níveis de traços. Métodos de injeção direta de amostras em sistemas de cromatografia líquida 2D têm propiciado maiores precisão e exatidão, além de limites de quantificação cada vez menores. O uso de uma coluna de meio de acesso restrito (RAM) na primeira dimensão e uma coluna de UHPLC na segunda dimensão foi investigado para a quantificação de ampicilina em leite bovino através da injeção direta de amostras. Este trabalho descreve os resultados obtidos. Este é o primeiro trabalho, no nosso conhecimento, a reportar o uso de UHPLC em configuração 2D.

Resultados e Discussão

O sistema, ACQUITY UPLC (Waters) composto por uma bomba binária e uma quaternária, com injetor automático Waters 2777C, acoplado a um Waters XEVO TQ-MS foi especialmente configurado em 2D tendo na primeira dimensão uma coluna RAM-BSA C8⁽¹⁾ (50 x 2,1mm Luna®, 10 µm, 100 Å), para exclusão de macromoléculas e simultânea retenção da ampicilina. Uma coluna ACQUITY UPLC BEH C18⁽²⁾ (50 x 2,1mm 1,7µm) foi usada na segunda dimensão.

A ampicilina foi analisada no modo positivo (ESI+), com a aquisição através do monitoramento de reações múltiplas (MRM). A transição específica 350>106 foi utilizada para a quantificação e as transições 350>160, 350>192 para a confirmação.

A injeção direta do leite fortificado com ampicilina forneceu o cromatograma da figura 1.

O efeito de matriz foi avaliado⁽³⁾ pelo modo de extração on-line e infusão pós-coluna tanto no modo unidimensional como no modo 2D. Os resultados obtidos demonstraram que em 2D o efeito matriz é reduzido em 30 % quando comparado ao modo 1D. Há diferença também no leite utilizado, leite *in natura* proporciona efeito de matriz maior se

comparado à aqueles obtidos pelo leite desnatado. Como descrito na tabela 1

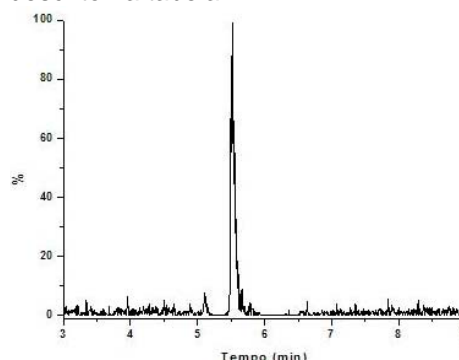


Figura 1. Perfil de eluição da ampicilina em leite bovino após acoplamento.

Tabela 1. Valores de efeito de matriz em leite bovino desnatado e *in natura* para análise de ampicilina pelo modo de extração on-line 2D

	Leite Desnatado	Leite <i>in natura</i>
CV(%)	12,3	4,2
Efeito de Matriz (%)	23,0	67,7

Conclusões

O acoplamento de uma coluna RAM-BSA a uma coluna ACQUITY UPLC propiciou as condições para quantificação da ampicilina em leite bovino por injeção direta de amostra. Baixo limite de quantificação foi conseguido e o método é adequado para monitoramento de resíduos deste antibiótico. O método será validado para ser utilizado em estudos de monitoramento de eliminação deste fármaco no leite bovino.

Agradecimentos

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

¹ De Lima, V. V.; Cassiano, N. M. e Cass, Q.B. *Quim. Nova.* **2006**, 29(1), 72

² Maldaner, L.; Jardim, I. C. S. F. *Quim. Nova.* **2009**, 32, n. 1.

³Cappiello A., Famigliani G., Palma P., Truffelli H., *Journal of Liquid Chromatography & Related.* **2010**, 33:9, 1067