Avaliação de resinas na extração e *clean-up* de resíduos de antimicrobianos da classe Tetraciclina em filés de Tilápia

Eduardo A. Orlando¹ (PG)*, Ana V. C. Simionato^{1,2} (PQ) *eduardo.orlando@ymail.com

¹Instituto de Química – UNICAMP, Rua Zeferino Vaz, s/nº, Barão Geraldo. Campinas - SP – Brasil CEP: 13083-970

²Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Bioanalítica

Palavras Chave: Tetraciclina, Tilápia, resíduos, antimicrobianos, peixes, resina XAD 16.

Introdução

Entre 2008 e 2009, a criação de Tilápia (*Oreochromis niloticus*) chegou a 132 mil toneladas/ano, sendo o carro chefe da produção aquícola brasileira. Um dos grandes desafios para o desenvolvimento da aquíicultura reside na dificuldade de um controle microbiano eficaz, já que os resíduos excretados são de difícil coleta, dissolvendo-se ou permanecendo em suspensão na água de cultivo. Uma das formas de controle da qualidade do ambiente aquático é o uso de medicamentos veterinários, como os antimicrobianos, sendo as Tetraciclina (TCs) uma das classes mais empregadas. Além de problema de saúde pública, a ocorrência de resíduos desses compostos podem se tornar fonte de barreira para a exportação do pescado brasileiro, pois nos principais mercados consumidores mundiais, há uma política de fiscalização do emprego desses medicamentos.¹

A maioria dos métodos empregados para análise das TCs utiliza cartuchos de extração em fase sólida (SPE), que possuem alto custo. Este trabalho buscou desenvolver um método alternativo para a determinação de resíduos de TCs em filé de Tilápias utilizando um procedimento de extração e *clean-up* com resinas adsorventes.

Resultados e Discussão

Inicialmente avaliou-se a resina de poliésteres XAD7 (Sigma Aldrich, EUA), que já tinha sido empregada por Miranda *et al.*² para extração de TCs em músculo de aves, e obteve ótimos resultados de recuperação (>85%). No entanto, esses resultados não se reproduziram e as recuperações encontradas foram muito baixas.

Optou-se em seguida por avaliar a resina poliaromática XAD16 (Sigma Aldrich, EUA), que apresentou boa recuperação em extrações em meio de solvente. As condições de extração na matriz biológica foram otimizadas utilizando planejamento fatorial experimental fracionário 2⁴⁻¹. Foram avaliadas variações nas condições de pH de adsorção, massa de resina adicionada, tempo de adsorção e eluente da resina.

O método otimizado consistiu em pesar 5,0g de amostras previamente filetadas e homogeneizadas

em processadores de alimentos, adicionar 10mL de solução tampão McIlvaine pH 4,0 e agitar em vortex por 1 minuto, seguido por centrifugação. O sobrenadante foi então filtrado em papel qualitativo e o pH foi acertado em 7,0. Em seguida, foi adicionado 1,0g de resina XAD16 e agitou-se com magneto por 20 minutos. A solução e a resina foram inseridos em cartucho de SPE vazio contendo lã de vidro e a resina foi isolada por aspiração do sobrenadante. As TCs foram eluídas da resina com 2 x 2mL de metanol e recolhidas em tubos de ensaio, que foram levados a secura com fluxo de N₂ e ressuspensos com 2mL de fase aquosa. A amostra foi filtrada e levada para injeção em HPLC

O método cromatográfico consistiu em: fase móvel aquosa (FA) - acetato de sódio 0,0375 mol L⁻¹, CaCl₂ 0,0175 mol L⁻¹, EDTA 0,0125 mol L⁻¹, pH 7,0 - e fase móvel orgânica (FB) - MeOH:ACN 50:50. Eluição sob vazão de 1 mL min⁻¹, gradiente (% de FA): 75% de 0-7 min; 70 % de 7-12 min; 65% de 12-13 min; e voltando a condição inicial de 13-18 min. Detecção por fluorescência ($\lambda_{exc}/\lambda_{em}$: 385/528 e 385/457nm). Injeção de 20µL. Os limites de detecção do método cromatográfico foram de 2-8µg/Kg. As recuperações obtidas com amostras fortificadas em 200µg/Kg estão apresentadas na Tabela 1:

Tabela 1. Recuperações das TCs na matriz biológica

Oxitetraciclina	Doxiciclina	Tetraciclina	Clortetraciclina
(49,3) ± 10,6	(48,1) ± 3,5	(52,6) ± 1,5	(59,8) ± 10,0

Conclusões

O método proposto apresentou sensibilidade para detectar concentrações de TCs abaixo do Limite Máximo de Resíduos (LMR) estabelecido pelas mais rigorosas agências reguladoras internacionais.

Agradecimentos

FAPESP, CNPQ e a Ricardo Pereira, técnico do Laboratório de Cromatografia do IQ – UNICAMP.

¹ Ostrensky, A.; Borghetti J. R.; Soto. D.. Aquíicultura no Brasil: o desafio é crescer. 276p. Secretaria Especial de Aquicultura e Pesca, Brasília, 2008.

² Miranda, J.M.; Rodríguez, J.A.; Galán-Vidalb, C.A.. Journal of Chromatography A, 1216, 3366-3371, 2009.