

Método por UPLC-MS/MS com SPE-online para extração e quantificação de fluoroquinolonas em solos

Mauver A. Sartóri¹ (PG), Caio Rodrigues-Silva¹ (PQ) e Anne H. Fostier^{1*} (PQ)

¹Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química, Departamento de Química Analítica, PO Box 6154, 13084-971, Campinas, SP. *e-mail: fostier@iqm.unicamp.br

Palavras Chave: Fluoroquinolonas, solo, SPE-online

Abstract

A method for fluoroquinolones extraction from soils and quantification using online solid phase extraction (SPE) coupled to UPLC/MSMS. The online SPE possible a acute way to cleanup and pre-concentrate the sample prior to quantification in the UPLC/MSMS.

Introdução

As fluoroquinolonas (FQ) constituem uma classe de antimicrobianos amplamente utilizada na produção pecuária. Esses compostos possuem uma baixa taxa de metabolização, podendo até 80% da dose administrada ser excretada *in natura*, via urina ou fezes, atingindo o solo e os meios hídricos. Mesmo que presentes em baixas concentrações nestes ambientes, os possíveis efeitos tóxicos desses medicamentos são preocupantes, principalmente em razão da possibilidade do desenvolvimento de bactérias e genes resistentes.¹ Estudos destes produtos em solos são ainda muito escassos. O objetivo desse trabalho consiste no desenvolvimento de um método de extração em fase líquida (SLE) assistida por ultrassom e quantificação de FQ (ciprofloxacina, danofloxacina, enrofloxacina e norfloxacina) em um sistema online SPE-UPLC-MS/MS para pré-concentração, clean up e quantificação dos analitos de interesse.

Resultados e Discussão

Para o desenvolvimento do método SLE assistida por ultrassom, os parâmetros foram otimizados, ficaram definidas como se segue: solução extratora composta por CaCl₂ 20% (m/v) em H₂O:MeOH 75:25 pH 9,0 alterado com NH₃; extração realizada em um ciclo de 15 mL de solvente extrator e com 5 min de banho de ultrassom. A amostra extraída foi seca em fluxo de N₂ e resuspendida em H₂O e injetada diretamente no online SPE-UPLC-MS/MS. Esse sistema de extração online possui um gerenciador de colunas que controla as etapas de carregamento, clean up, eluição e limpeza da coluna de extração. O carregamento e clean up da amostra foi realizado por uma bomba quaternária e a eluição e separação cromatográfica por uma bomba binária. O método do SPE online foi desenvolvido avaliando-se os seguintes parâmetros: tipo de sorbente (C8 ou HLB Oasis) da coluna de extração, volume da amostra (5 – 250 µL), fase móvel (FM) de carregamento e eluição, tempo de clean up (0,3 – 1,5 min). As

melhores condições de trabalho no SPE online foram: sorbente coluna XBridge C8 HP (2.1 x 30 mm x 10 µm); FM de carregamento: Ác. fórmico 0,1%:MeOH, 95:05, v/v; tempo de clean up: 0,75 min; eluição em fluxo contrario ao de carregamento; FM de eluição: Ác. fórmico 0,1%:MeOH, 20:80; V_{carregamento}: 200 µL. O tempo da corrida cromatográfica incluindo a etapa de SPE foi de 3 min. A quantificação dos analitos foi realizada em um analisador triplo quadrupolo (Xevo TQD Zspray, Waters), com fonte de ionização electrospray modo positivo com as seguintes condições otimizadas: capilar 0,70 kV, T de dessolvatação 500 °C, 1000 L h⁻¹ de N₂ foi utilizado como gás de dessolvatação e argônio foi utilizado como gás de colisão. Gatifloxacina e lomefloxacina foram utilizados respectivamente como padrão interno e surrogate. A quantificação foi realizada no modo SRM, sendo para cada analito (precursor (m/z)/cone (V); íon de quantificação (m/z)/energia de colisão (V); íon de confirmação (m/z)/collision energy (V)): ciprofloxacina (332/40; 314/22; 288/18), enrofloxacina (360/40; 342/20; 316/20), norfloxacina (320/40; 276/20; 233/25), danofloxacina (358/20; 314/40; 96/25). É importante ressaltar que o MS/MS possibilitou a avaliação do efeito da matriz das amostras.

Conclusões

Apesar da dificuldade largamente relatada na literatura referente à extração de fluoroquinolonas em amostras de solos, o método de extração desenvolvido possibilitou a recuperação de cerca de 60% das fluoroquinolonas após prévio fortalecimento de solo latossolo vermelho-amarelo. O método de pré-concentração e *clean up* no SPE-online apresentou redução no tempo de preparo de amostras e boa reprodutibilidade dos resultados, mostrando-se uma ferramenta útil para quantificação de analitos em baixas concentrações (ppb).

Agradecimentos

CAPES e FAPESP (2013/09543-7 e 2014/16622-3).

¹ Rusu, A.; Hancu, G.; Uivaros, V. Fluoroquinolone pollution of food, water and soil, and bacterial resistance. *Environ. Chem. Lett.* **2015**, 13:21-36.