XXV Congresso de Iniciação Científica da Unicamp
18 a 20 Outubro Campinas | Brasil
2017

Determinação de Resíduos de Tilosina em Cama de Frango

Michele C. dos Santos Pugini, Natália F. Tetzner, Susanne Rath

Resumo

Antimicrobianos da família dos macrolídeos, entre essas a tilosina, são amplamente empregadas na avicultura. Os resíduos dos fármacos na cama de frango expostas ao ambiente podem impactar o mesmo. Esse trabalho teve como objetivo desenvolver e validar método para a determinação de tilosina em cama de frango empregando a cromatografia líquida de ultra alta eficiência associada a espectrometria de massas sequencial (UHPLC-MS/MS). Para a extração sólido-líquido foram avaliados diferentes solventes. A mistura acetonitrila:água 1:1 (v/v) levou a uma eficiência de extração de tilosina de 55% e um efeito matriz em torno de -30%. Como padrão interno foi selecionado a roxitromicina. O método desenvolvido foi validado, e foram estabelecidos os seguintes parâmetros: faixa linear de 5 a 100 µg/g, com linearidade (r) > 0,98, precisão intra-dia de 6,0% e exatidão de 103 a 111%.

Palavras-chave:

Tilosina, cama de frango, UHPLC-MS/MS.

Introdução

A tilosina (Fig. 1) é um antimicrobiano da família dos macrolídeos amplamente empregado na avicultura. Uma vez que fármaco não é completamente metabolizado pelo organismo do animal, a cama de frango exposta ao ambiente pode contaminar solos e água e levar a resistência bacteriana.

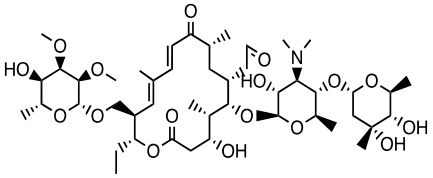

Figura 1 - Tilosina.

Esse trabalho teve como objetivos o desenvolvimento de método para a determinação de tilosina em cama de frango, usando a cromatografia líquida de ultra alta eficiência associada a espectrometria de massas sequencial (UHPLC-MS/MS).

Resultados e Discussão

Para o desenvolvimento do método foram avaliadas as condições no espectrômetro de massas (fragmentação, aditivos na fase móvel, temperatura de dessolvatação, energia do cone e de colisão), as condições de separação cromatográficas (fase móvel) e padrão interno (roxitromicina e eritromicina).

Pela infusão da tilosina (ESI+) foram selecionados as transições *m/z* 916 → 174 para quantificação (QI) e *m/z* 934 →174 para confirmação de identidade (CI). A roxitromicina foi selecionada como padrão interno (*m/z* 937 →158 (QI) e *m/z* 937 → 679 (CI)), uma vez que a eritromicina não foi estável em meio ácido.

Para a separação cromatográfica em uma coluna Acquity UHPLC BEH C18 (2,1 x 50 mm, 1,7 µm) (Waters, Irlanda) foram definidos como fase móvel ácido fórmico 0,1%:10 mmol L^{-1} acetato de amônio:MeOH na proporção 15:15:70 (v/v).

Uma vez otimizadas as condições de quantificação foi avaliado o preparo de amostras. Para tanto, cama de frango branco previamente triturada em moinho foi fortificada com tilosina 25 µg g^{-1} e padrão interno. Foram avaliados diferentes solventes para a extração sólido-líquido: acetonitrila e acetonitrila:água 1:1 v/v e acetonitrila:água 1:2 v/v. A mistura de ACN:H_2O na proporção 1:1 v/v foi escolhida como solução extratora por promover uma maior eficiência de extração, tanto para a tilosina como para a roxitromicina (Fig. 2).

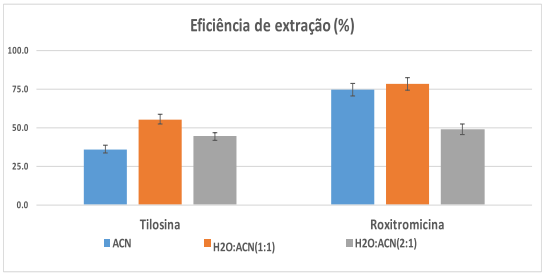

Figura 2 - Eficiência de extração da tilosina e roxitromicina em cama de frango.

Esse solvente extrator também levou ao menor efeito matriz (Fig. 3).

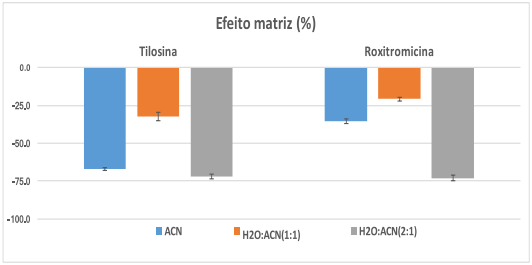

Figura 3 – Efeito matriz da tilosina e roxitromicina extraídos da cama de frango.

O método desenvolvido foi validado, tendo sido estabelecidos os seguintes parâmetros: faixa linear de 5 a 100 µg g^{-1}, com linearidade (r) > 0,98, precisão intra-dia de 6,0% e exatidão de 103 a 111%.

Conclusões

O método desenvolvido e validado é adequado, tanto quanto a seletividade e detectabilidade, para monitorar tilosina em cama de frango proveniente de aves tratadas com esse antimicrobiano.

Agradecimentos

Agências de fomento CNPq e FAPESP (2013/09543-7).