

DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE MÉTODO PARA DETERMINAÇÃO DE FLORFENICOL E SEU METABÓLITO EM TILÁPIA POR LC-MS/MS

**Letícia S. Shiroma^a (PG)^a, Claudio M. Jonsson (PQ)^b, Sonia C. N. Queiroz^b (PQ),
Carla B. G. Bottoli (PQ)^a**

^aInstituto de Química da UNICAMP, Departamento de Química Analítica, Campinas, SP, Brasil, 13083-970

^bEmbrapa Meio Ambiente, Laboratório de Resíduos e Contaminantes, Jaguariúna, SP, Brasil, 13918-110

*e-mail: lsshroma@gmail.com.br

Atualmente há um crescimento na produção de pescado no mundo devido à busca dos consumidores por alimentos mais saudáveis e com alto valor nutritivo.¹ Para atender a esse aumento na demanda de pescados surgiu o cultivo intensivo. Porém neste sistema de produção há uma maior ocorrência de infecções, pois a alta densidade populacional de peixes resulta em má qualidade da água, mudanças nos valores de pH, oxigênio, maior acúmulo de resíduos orgânicos e nutrição insuficiente dos peixes. Essas infecções podem ocasionar lesões superficiais, nas barbatanas, nas caudas e doenças branquiais.² Para controlar isso, são administrados antibióticos, que são compostos que previnem ou tratam infecções microbianas. Entretanto o uso indiscriminado dessas substâncias pode causar contaminação ambiental e deixar resíduos nos alimentos.³ O excesso de antibióticos pode favorecer a resistência de bactérias, diminuindo a eficiência nos tratamentos, causando infecções mais severas nos seres humanos. Assim, para que se faça o uso racional do medicamento veterinário é necessário realizar estudos sobre depleção, período de carência e bioacumulação desses produtos no animal após a sua administração.⁴ Para isso é necessário o desenvolvimento de métodos analíticos para a determinação dos resíduos destes produtos nos animais e no ambiente. Neste trabalho foi desenvolvido e validado um método analítico para determinação do antibiótico veterinário florfenicol em músculos de tilápias (*Oreochromis niloticus*), por esta ser a espécie de peixe mais produzida no Brasil e possuir grande interesse econômico.⁵ O florfenicol foi estudado por ser um dos únicos antibióticos permitidos por legislação no país e por possuir amplo espectro de atuação, sendo eficaz contra muitas bactérias *gram* positivas e negativas em peixes.⁶ Para desenvolver o método, foi utilizada uma técnica de extração em que 1,0 g de músculo de tilápia, fortificado com florfenicol e seu metabólito florfenicol amina, foi extraído com 5 mL de acetonitrila contendo 1% v/v de ácido acético. Para a etapa de *salting-out* e remoção de lipídeos foram adicionados 2,0 g de sulfato de magnésio e 50 mg de C₁₈. Após processo de agitação em *vortex*, de centrifugação, secagem do extrato e ressuspensão em fase móvel, foi realizada análise por cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas sequencial, utilizando o cromatógrafo a líquido de alta pressão UFLC Shimadzu LC20AT acoplado ao analisador de massas *ion trap* amaZon X. Os parâmetros de validação avaliados foram efeito matriz (-28% para o florfenicol e -45% para o florfenicol amina), linearidade de 0,25 a 2,00 µg mL⁻¹, com coeficientes de correlação ≥ 0,99, recuperação de 70 a 79% para o florfenicol e 62 a 69% para o florfenicol amina, precisão intra e inter-dias com coeficientes de variação ≤ 17,7 %, CC_α de 1183 µg kg⁻¹ e o CC_β de 1365 µg kg⁻¹. Esse método apresenta facilidade de execução por possuir uma única e simples etapa de extração/*clean-up*, rapidez de análise, melhores recuperações para os analitos quando comparada a outros métodos convencionais, atinge os Limites Máximos Permitidos, tem baixo consumo de amostra, de reagentes, de solventes e baixa geração de resíduos, estando em consonância com os princípios da química verde.

¹ Fi, R., Proteínas do peixe, *Food Ingredients Brasil*, 2009, 23.

² Aly, S. M., Nouh, W. G., Salem-Bekhit, M. M. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Sciences*, 2, 2012, 94.

³ Booth, N. H., McDonald, L. M., *Farmacologia e terapêutica em veterinária*, Rio de Janeiro, 1992, 997, Brasil.

⁴ Nunes, K. S. *et al.*, *Chemosphere*, 197, 2018, 89-95.

⁵ IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, *Produção da Pecuária Municipal*, 44, 2016, 36.

⁶ Plumb, D.C., *Veterinary Drug Handbook*, Iowa State Press, 5ª, 2004, 335.

Agradecimentos ao BNDES (0117020010606007); Capes; Fapesp (2014/50867-3); CNPq (311671/2015-2; 465389/2014-7); INCT-Bioanalítica