

AValiação DO PERÍODO DA ESTABILIDADE DA RACTOPAMINA EM AMOSTRAS DE FÍGADO E RIM EXTRAÍDAS POR QuEChERS NAS CONDIÇÕES PRÉ-INJEÇÃO DO LC-MS/MS

Ana Júlia Neis¹, Diego Surek², Vanessa Gressler², Vivian Feddern³

¹Graduando em Farmácia pela Universidade do Contestado, Campus Concórdia, bolsista CNPq, anajulianeis@gmail.com

²Analista da Embrapa Suínos e Aves

³Pesquisadora da Embrapa Suínos e Aves

Palavras-chave: β -agonista, cromatografia líquida, espectrometria de massas, temperatura.

INTRODUÇÃO

O cloridrato de ractopamina (RAC) é um agonista de β -adrenoceptores utilizado em suínos 28 dias antes do abate, a fim de promover o aumento da deposição de carne e a redução do total de gordura na carcaça (1). Devido as suas vantagens e aos estudos realizados na década de 70, esta passou a ser amplamente utilizada (2). O seu uso como aditivo na alimentação animal é aprovado e regulamentado em diversos países, dentre eles os Estados Unidos, Canadá, México e Austrália. Apesar disso, sua utilização é exclusiva em rações para suínos em fase de terminação em doses de 5-20 mg/kg e segundo a FAO (3), os limites máximos permitidos de resíduos de RAC em suínos são de 10 μ g/kg para músculo e gordura, 40 μ g/kg para fígado e 90 μ g/kg para rim. Como esta substância possui restrições no mercado, seu monitoramento é de grande importância (1). Sendo assim, a utilização de metodologias de análise altamente sensíveis e modernas é necessária para sua quantificação. Apesar da RAC ser uma molécula estável quimicamente, seu comportamento pode ser diferente na presença da matriz. Diante disso, este trabalho tem como objetivo avaliar a estabilidade da RAC em tecidos suínos (fígado e rim) após o preparo da amostra até o momento de injeção no cromatógrafo líquido acoplado ao espectrômetro de massa (LC-MS/MS).

MATERIAL E MÉTODOS

Amostras de fígado e rim de suínos foram extraídas por QuEChERS (*Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe*) segundo metodologia publicada por Feddern et al. (2018). Em suma, a 5 g de tecido foram adicionados padrões de RAC (5 e 25 μ g/kg) para posterior digestão com protease e na sequência, as amostras foram hidrolisadas com β -glucuronidase. Após o ajuste de pH, foi realizada a adição de acetonitrila, seguido da utilização dos kits de extração e clean-up (roQ™ QuEChERS, Phenomenex, KS0-8921 e KS0-8909). Do sobrenadante, 1 mL foi transferido para *vial* de injeção para análise por LC-MS/MS. As condições cromatográficas de separação foram realizadas em coluna C18 com gradiente de eluição (metanol e água, ambos contendo 0,1% de ácido fórmico) em corrida de 10 min. O espectrômetro de massas operou com ionização no modo positivo e a aquisição dos dados foi por *multiple-reaction monitoring* (MRM). Para a RAC, o ion precursor monitorado foi o m/z 302,2 e os ions filhos m/z 121,2 e m/z 164,2. As amostras preparadas por QuEChERS foram inseridas no amostrador automático do LC-MS/MS, o qual foi mantido a 10 °C e a estabilidade das amostras foi monitorada por um período de 35 dias. A metodologia estatística utilizada para análise dos resultados foi a Análise de Variância. Para as variáveis que apresentaram diferença significativa ($p \leq 0,05$), foram geradas as equações de regressão linear.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A avaliação do período de estabilidade do analito de interesse, após o preparo de amostras, muitas vezes não é avaliado, pois se assume que a amostra seja imediatamente injetada no sistema cromatográfico. Porém, esta não é a realidade que frequentemente ocorre na prática, onde o processo de extração é realizado em batelada e todas amostras são dispostas ao mesmo momento no amostrador automático do equipamento, porém analisadas em sequência. Sendo assim, a primeira amostra a ser analisada permanece menos tempo nas condições do amostrador, quando comparadas com a última. Além disso, pode existir a possibilidade de uma reavaliação dos dados cromatográficos e a necessidade de reinjeção da amostra ou parada para manutenção. Neste trabalho, avaliou-se a estabilidade da RAC nas amostras de fígado e rim, em duas concentrações, por um período de 35 dias. A Figura 1 mostra o comportamento da concentração de RAC no período para as amostras de fígado e rim nos níveis de 5 e 25 μ g/kg. Para o fígado, na concentração mais baixa (5 μ g/kg) não foi significativo o modelo no período avaliado. Porém, na concentração mais alta (25 μ g/kg) foi significativo e podemos observar um declínio da concentração ao longo do tempo ($R^2 = 0,6748$, $p \leq 0,05$). Em rins, para ambas as concentrações foram observadas significância do modelo e foi observado um declínio da concentração ao longo do tempo com $R^2 = 0,3935$ ($p \leq 0,05$) para 5 μ g/kg e $R^2 = 0,4749$ ($p \leq 0,05$) para 25 μ g/kg.

CONCLUSÕES

Apesar da RAC ser uma molécula bastante estável em solventes orgânicos, este trabalho mostra que sua estabilidade pode ser comprometida na presença da matriz oriunda da extração de tecidos de fígado e rim de suínos. Os resultados mostram que na concentração mais alta, a possibilidade de degradação ou de mascaramento do analito de interesse aumenta. Desta forma, as amostras extraídas por QuEChERS devem ser rapidamente analisadas por LC-MS/MS e o seu armazenamento (a 10 °C) para análises posteriores não é recomendado por períodos prolongados.

REFERÊNCIAS

1. MAPA Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento - **Antimicrobianos anticoccidianos e agonistas autorizados DFIP** - dezembro 2008. Disponível em <<http://www.agricultura.gov.br>> Acesso em: 30 ago. 2018.
2. Ross, K. A., Beaulieu, A. D., Merrill, J., Vessie, G., & Patience, J. F. (2011). **The impact of ractopamine hydrochloride on growth and metabolism, with special consideration of its role on nitrogen balance and water utilization in pork production.** *Journal of Animal Science*, v. 89, n. 7, p. 2243–2256.
3. FAO. UN food safety body sets limits on veterinary growth promoting drug. **Codex Alimentarius Commission adopts maximum residue levels.** 06 jul. 2012. Disponível em: <<http://www.fao.org/news/story/en/item/150953/icode/>>. Acesso em: 25 jul. 2012.

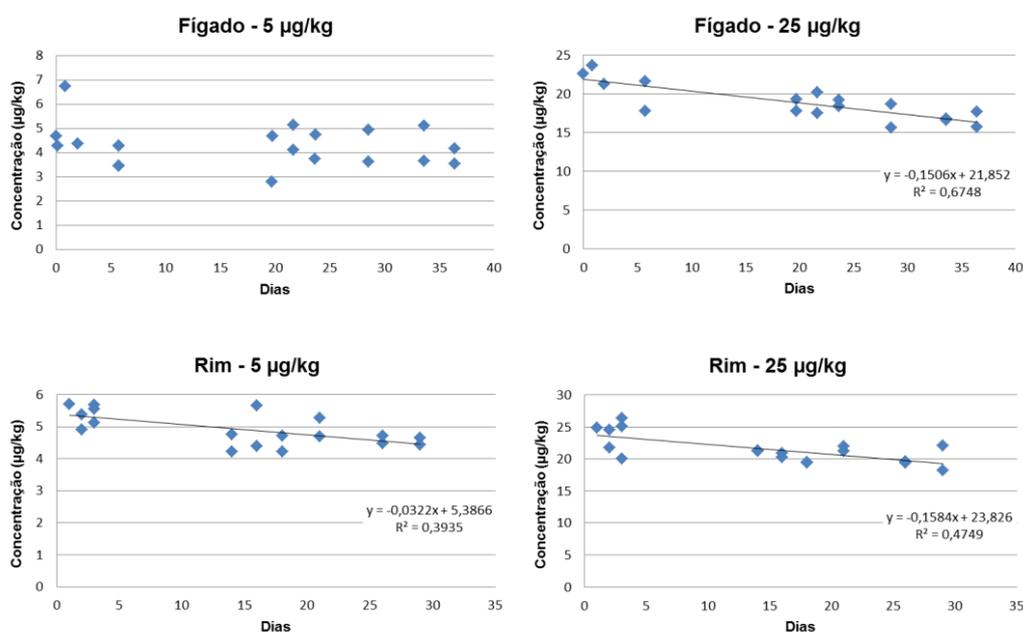


Figura 1. Resultados das análises de estabilidade da RAC em amostras de fígado e rim de suíno.