

# 13 Jinc

Jornada de  
Iniciação Científica

## Anais da 13<sup>a</sup> Jornada de Iniciação Científica (JINC)



Universidade  
do Contestado



*Fundação Universidade do Contestado*

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária  
Embrapa Suínos e Aves  
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

# **Anais da 13<sup>a</sup> Jornada de Iniciação Científica (JINC)**

*Fundação Universidade do Contestado  
Embrapa Suínos e Aves  
Concórdia, SC  
2019*

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

**Embrapa Suínos e Aves**

BR 153, Km 110  
Caixa Postal 321  
CEP 89.715-899 - Concórdia, SC  
Fone: (49) 3441 0400  
Fax: (49) 3441 0497  
www.embrapa.br  
www.embrapa.br/fale-conosco/sac

**Fundação Universidade do Contestado - UnC**

Rua Victor Sopelsa, 3.000  
Bairro Salete - Caixa Postal 211  
CEP 89.700-970 - Concórdia, SC  
Fone: (49) 3441-1000  
Fax: (49) 3441-1020  
reitoria@unc.br  
www.unc.br

**Unidade responsável pela edição**

Embrapa Suínos e Aves e Fundação  
Universidade do Contestado - UnC

**Instituição responsável pelo conteúdo**

Fundação Universidade do Contestado - UnC

Coordenação editorial: *Tânia M. B. Celant*  
Editoração eletrônica: *Vivian Fracasso*  
Normalização bibliográfica: *Claúdia A. Arrieche*  
Criação da logomarca: *Marina Schmidt*  
Arte da capa: *Vivian Fracasso*  
Foto da capa: *Jairo Backes*

**Nota**

Os artigos publicados são de inteira responsabilidade de seus autores. As opiniões neles contidas não representam, necessariamente, a visão da Embrapa Suínos e Aves. A revisão ortográfica e gramatical dos artigos é de inteira responsabilidade dos respectivos autores.

**1ª edição**

Publicação digitalizada (2019)

**Todos os direitos reservados**

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte,  
constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**

Embrapa Suínos e Aves

---

Jornada de Iniciação Científica (13. : 2019 : Concórdia, SC).

Anais da 13ª Jornada de Iniciação Científica (JINC), Concórdia,  
23 de outubro de 2019. – Concórdia, SC : Fundação Universidade  
do Contestado : Embrapa Suínos e Aves, 2019.

127 p.

Sistema requerido: Adobe Acrobat Reader.

ISBN 000-00-00000-00-0

1. Produção Animal. 2. Suíno. 3. Ave. I. Embrapa Suínos e Aves.  
II. Fundação Universidade do Contestado (UnC).

CDD 636

---

© Embrapa 2019

## ANÁLISE DE NICARBAZINA EM RAÇÕES DE FRANGO DE CORTE POR HPLC-UV

Ana Júlia Neis<sup>1</sup>, Vivian Feddern<sup>2</sup>, Anildo Cunha Júnior<sup>3</sup>, Vanessa Gressler<sup>3</sup> e  
Rodrigo Hoff<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Graduanda em Farmácia pela Universidade do Contestado, Campus Concórdia, bolsista CNPQ/PIBIC, [anajulianeis@gmail.com](mailto:anajulianeis@gmail.com)

<sup>2</sup>Pesquisadora da Embrapa Suínos e Aves

<sup>3</sup>Analista da Embrapa Suínos e Aves

<sup>4</sup>Auditor Fiscal Federal Agropecuário do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Laboratório Federal de Defesa Agropecuária, São José

**Palavras-chave:** anticoccidiano, implementação metodológica, cromatografia líquida, espectroscopia UV.

### INTRODUÇÃO

Um dos problemas que mais acometem a produção comercial de frangos de corte é a ocorrência da coccidiose, uma zoonose causada por protozoários do gênero *Eimeria*. Esta doença tem por consequência, perdas econômicas significativas devido à queda na produtividade e à mortalidade dos frangos (1). Dessa forma, aditivos anticoccidianos são utilizados na ração das aves para manutenção da saúde do plantel. A nicarbazina (NCZ), por exemplo, é frequentemente usada para este propósito, apresentando custo-benefício vantajoso, além de não promover o desenvolvimento de resistência antimicrobiana de *Eimeria* (2). O uso regular dos anticoccidianos, sem a observação das boas práticas de produção, pode resultar na contaminação da carne de frango com resíduos destes aditivos, podendo representar um fator de risco para a saúde humana. Dessa maneira, para garantir a segurança no consumo da carne de frango, é preciso respeitar o período de retirada e a concentração permitida para adição de NCZ na ração (1). No Brasil, a concentração permitida desse aditivo na ração é de 125 mg/kg com período de retirada de 10 dias (3), enquanto que na União Europeia permite-se a mesma concentração do anticoccidiano com 1 dia de retirada. Nos Estados Unidos, a concentração máxima permitida é maior (181,6 mg/kg) com tempo de retirada de 4 a 5 dias (4;5).

Cada método deve ser adaptado de acordo com o tipo de amostra e tipo de resíduo de produto veterinário a ser analisado. A ração é mais simples para ser analisada comparada à carne, pois na ração, o produto veterinário não passou por nenhum processo metabólico ou digestivo dentro do animal. A carne é uma matriz complexa e pode requerer etapas extras de extração e purificação antes da análise cromatográfica. A cromatografia é hoje a principal ferramenta para separar resíduos de produtos veterinários, pois apresenta elevado desempenho e sensibilidade, sendo capaz de detectar níveis traço nas amostras. Ela pode ser acoplada a diferentes detectores, como ultravioleta, fluorescência, espectrometria de massas, entre outros. Existem outros métodos disponíveis no mercado como kits ELISA, que permitem a determinação de resíduos, porém não são tão precisos quanto à cromatografia, além de serem considerados um método de varredura, mas não um método confirmatório, o qual é exigido por países importadores. A validação do método é importante para confirmar que o mesmo está apto para ser reproduzido e recomendado, considerando critérios internacionais de linearidade, repetibilidade, taxas de recuperação, limites de detecção, entre outros parâmetros avaliados na validação.

Este trabalho objetivou implementar um método para determinar NCZ em ração de frangos de corte, baseado em extração em fase sólida seguida de cromatografia líquida com detecção por ultravioleta (SPE-HPLC-UV).

### MATERIAL E MÉTODOS

O método utilizado foi adaptado de Protasiuk et al. (6). Amostras de ração para frangos de corte livres de NCZ (controle negativo) e amostras de rações de frango de corte contendo 40 e 125 mg/kg de NCZ ( $n = 4$  para cada concentração) foram produzidas para aplicação do método. Todas as amostras foram homogeneizadas separadamente em moinho analítico IKA A11. Cerca de 2 g de cada amostra foram pesados em tubos de polipropileno de 50 mL. Em seguida, 20 mL de acetonitrila/água 90:10(v/v) foram adicionados e a mistura foi agitada por inversão durante 30 minutos. Os tubos foram então centrifugados a 4000 g (15 °C por 10 minutos) para posterior purificação por extração em fase sólida (SPE). Cartuchos para SPE contendo C18 (500 mg) foram previamente condicionados com acetonitrila/água 90:10 (2 x 2 mL). Após o condicionamento, 2 mL do sobrenadante do extrato centrifugado foram aplicados aos cartuchos para retenção das impurezas do extrato. A eluição da NCZ foi auxiliada com a adição de acetonitrila/água 90:10 (2 x 2 mL) ao cartucho, por gravidade. Os eluatos de cada amostra foram combinados em um único tubo de 15 mL e a solução resultante foi evaporada sob fluxo de N<sub>2</sub> a 45 °C até 2 mL. As soluções das amostras foram transferidas para *vial* de 1,5 mL para posterior análise por HPLC-UV. A quantificação foi baseada em uma curva de calibração preparada em matriz branca (ração livre de NCZ) com as seguintes concentrações de NCZ: 1,42; 3,55; 7,10; 14,20; 21,3 e 28,40 mg/kg. Amostras para controle de qualidade do ensaio (100 mg/kg) foram preparadas por fortificação direta de amostra branca com solução padrão de NCZ. Para confirmação dos resultados, as mesmas amostras preparadas para aplicação do método também foram analisadas por outro laboratório (Laboratório Federal de Defesa Agropecuária – LFDA/RS), utilizando método de referência para análise de medicamentos veterinários em produtos para alimentação animal (MET ALA/SLAV/024). Brevemente, o método do LFDA consiste na dispersão da amostra (2 g) com

uma fase sólida (terra diatomácea) e a extração da mistura por líquido pressurizado (água/acetoneitrila 80:20 (v/v) com 0,1% de ácido fórmico). O extrato resultante (cerca de 12 mL) é refrigerado por 30 minutos, centrifugado e uma alíquota do sobrenadante é injetada diretamente no sistema de HPLC.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em um teste preliminar usando uma amostra controle contendo 142,9 mg/kg, obteve-se recuperação de 104,6% com desvio-padrão de 8,1%. O procedimento utilizado neste trabalho foi baseado no método descrito por Protasiuk et al. (6), que encontrou recuperação de 99,9% e coeficiente de variação de 1,8% para o nível de 50 mg/kg. Nossos resultados indicaram que o método avaliado apresenta exatidão e precisão adequadas, o que viabilizou sua implementação para análise de NCZ em dietas de frango de corte obtidas em fábrica de ração. Essas dietas foram formuladas para conter 40 e 125 mg/kg de NCZ. Os resultados de NCZ obtidas no LAFQ são apresentados na Tabela 1, assim como as concentrações fornecidas pelo LFDA/RS. Quando o método sob avaliação foi utilizado em amostras reais, obteve-se resultados condizentes com os valores formulados por ambas as metodologias. Esses resultados são decorrentes da execução por diferentes analistas, metodologias e equipamentos, contribuindo para a elevação do erro experimental. Porém, permanece a dúvida se a mistura de ração foi eficaz, ou seja, o processo fabril da ração apresentou a homogeneidade devida, o que poderia ser mais uma fonte de erro importante relacionada à amostragem e que se refletiria na quantificação.

### CONCLUSÕES

O método avaliado pode ser aplicado no monitoramento da concentração de NCZ em amostras de ração de frangos de corte. O estabelecimento correto da performance dos dois laboratórios poderá ser melhor estimado em futuros trabalhos através do uso de uma amostra de proficiência fornecida por provedor externo.

### REFERÊNCIAS

1. LIMA, A.L. **Pesquisa de resíduos de anticoccidianos por LC-MS/MS em frangos de corte submetidos a tratamento farmacológico**. 2016. 73f. Tese (Doutorado) - Curso de Ciência Animal, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2016.
2. ABPA. (2018). **Relatório anual**. São Paulo: Associação Brasileira de Proteína Animal (ABPA). Disponível em: <http://abpa-br.com.br/storage/files/relatorio-anual-2018.pdf>. Acesso em: 23 jul. 2019.
3. Brasil. (2015). **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. Tabela de aditivos antimicrobianos, anticoccidianos e agonistas com uso autorizado na alimentação animal. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-pecuarios/alimentacao-animal/aditivos>. Acesso em: 25 jul. 2019.
4. EFSA. (2010). Scientific opinion on the safety and efficacy of Koffogran (nicarbazin) as a feed additive for chickens for fattening. **EFSA Journal**, 8(3), 1551:1-40. Disponível em: <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.2903/j.efsa.2010.1551>. Acesso em: 30 jul. 2019.
5. USA. (2012). Title 21 - **Food and Drugs. Chapter I - Food and Drug Administration, Department of Health and Human Services. Subchapter E - animal drugs, feeds, and related products part 556 - tolerances for residues of new animal drugs in food. Subpart B - Specific Tol. US Government Publishing Office**.
6. PROTASIUK, E. et al. (2015). Determination of nicarbazin in animal feed by High-Performance Liquid Chromatography with interlaboratory evaluation. **Analytical Letters**, 48(14):2183-2194.

**Tabela 1.** Resultados da determinação de nicarbazina realizado em rações, por dois laboratórios.

Concentração formulada (mg/kg)	LAFQ (mg/kg) <sup>1</sup>	LFDA (mg/kg) <sup>2</sup>
0	ND	ND
40	36,4 ± 3,3	57,3 ± 16,6
125	111,7 ± 9,1	102,2 ± 17,6

LAFQ: Laboratório de Análises Físico-Químicas

LFDA: Laboratório Federal de Defesa Agropecuária

ND: Não detectado

Os valores estão expressos como média ± erro padrão

<sup>1</sup>n=8

<sup>2</sup>n=4