

SISTEMA DE ANALISIS EN FLUJO PARA LA EXTRACCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE CLEMBUTEROL EN MUESTRAS DE LACTOREEMPLAZANTES UTILIZADOS PARA LA PRODUCCION PECUARIA

Natalia González^{1,*}, Ivana Srámková², Carolina Acebal^{1,*}, Burkhard Horstkotte², Adriana Lista¹, Hana Sklenářova², Beatriz Fernández Band¹

¹INQUISUR (UNS-CONICET)-Departamento de Química, Universidad Nacional del Sur, Avenida Alem 1253, B8000CPB, Bahía Blanca, Argentina.

²Departamento de Química Analítica, Facultad de Farmacia, Universidad Carlos de Praga, Hradec Králové, República Checa.

*e-mail: ngonzalez@inquisur-conicet.gov.ar , cacebal@uns.edu.ar

Introducción

En la actualidad se utilizan sustancias incorporadas a distintos productos alimenticios con el objetivo de mejorar parámetros productivos, reproductivos, descuidando el aspecto de inocuidad. El clorhidrato de clenbuterol (CLB) es un fármaco agonista β_2 cuya acción terapéutica es mitigar el asma y los espasmos bronquiales relajando los músculos y abriendo las vías respiratorias. Si es empleado en dosis diez veces superiores a la terapéutica presenta acción anabolizante y lipolítica, lo que mejora la retención de compuestos nitrogenados desviando la energía, los nutrientes de los alimentos y las reservas de grasas hacia la síntesis de proteínas. Esto favorece un rápido aumento de peso en función del tiempo y disminuye la formación de grasa.

Por esta razón, el CLB es utilizado como un aditivo alimenticio en la cría de ganado destinado para el consumo humano, y generalmente es administrado sin respetar el periodo de retiro antes de la faena del animal, lo que genera una acumulación del fármaco en diversos tejidos [1].

Por otro lado, los sistemas de Análisis Flow-Batch (FBA) presentan las ventajas de los sistemas en flujo y las características de las reacciones en batch [2]. Los sistemas FBA constituyen una excelente alternativa para automatizar los procedimientos analíticos debido a su flexibilidad y versatilidad, y hacen posible la implementación de diferentes procesos analíticos sin realizar modificaciones importantes en el sistema. Además, los sistemas FBA tienen varias ventajas tales como la fácil aplicación, elevada frecuencia de muestreo, alta sensibilidad, bajo costo de análisis, y el uso de pequeñas cantidades de reactivos.

En este trabajo, se diseñó un sistema FBA para la extracción y cuantificación espectrofotométrica de CLB en lactoreemplazantes, empleados en la crianza artificial de terneros destinados al consumo humano.

Resultados

Debido a que el CLB se encuentra en dosis relativamente bajas en la muestra, se realizó la extracción y preconcentración del analito empleando un polímero de impresión molecular (MIPs, Supelco), altamente selectivo, como adsorbente. Para realizar la extracción en fase sólida (SPE), se empacó una columna de corta longitud (3.0 x 0.8 cm) con 25 mg de MIPs y se acopló al sistema FBA para realizar la extracción de manera automática. La cuantificación del analito se realizó empleando un método espectrofotométrico basado en la reacción de Griess [3].

El sistema FBA utilizado consta de 4 canales los cuales están destinados al acondicionamiento de la columna (acetato de amonio pH 6,7), a la carga de la muestra

(5,0 mL diluida en acetato de amonio pH 6,7), el lavado de la columna (acetonitrilo 70%) y posterior elución del analito empleando metanol/ácido tricloroacético 1%. La solución de analito eluido de la columna se direcciona a la cámara de mezclado, en donde se desarrolla la reacción colorimétrica y la detección a 500 nm.

Se llevó a cabo la optimización de las variables físicas y química del sistema tales como el caudal ($0,75 \text{ mL min}^{-1}$), volumen de muestra (5,0 mL), volumen de eluyente (0,5 mL), orden de agregado y concentración de los reactivos.

El método propuesto fue evaluado en términos de linealidad ($0,075\text{-}0,500 \text{ mg L}^{-1}$), límite de detección ($0,021 \text{ mg L}^{-1}$), repetibilidad (RSD: 1,1 %) y reproducibilidad (RSD: 3,0%).

La metodología desarrollada fue aplicada para la determinación de CLB en muestras de lactorreemplazantes, obteniendo resultados satisfactorios.

Conclusión

El método desarrollado se aplicó con éxito a la determinación de CLB en muestras de lactoreemplazantes adquiridas en comercios de la región. El uso del sistema FBA con el paso de preconcentración en línea y cuantificación colorimétrica permitió disminuir el número de pasos en el procedimiento SPE, y el tiempo de análisis (en comparación con el procedimiento convencional usando MIPs y determinación por HPLC-UV [4]).

Referencias

- [1] Valladares Carranza B., Bañuelos Valenzuela R.; Peña Betancourt S.D.; Velázquez Ordoñez V.; Echavarría Cháirez F.G.; Muro Reyes A.; Zaragoza Bastida A.; Ortega Santana C.; Zamora Espinosa J.L.; Gutiérrez Castillo. Redvet 16 (2015) 2.
- [2] P. H. Goncalves Dias Diniz, L. Farias de Almeida, D. P. Harding, M. C. Ugolino de Araújo, Trends Anal. Chem. 35 (2012) 39.
- [3] Norwitz G, Kellher P, Anal. Chem. 53 (1981) 1238-1240.
- [4] Blomgren A, Berggren C, Holmberg A, Larsson F, Sellergren B, Ensing K, J Chromatogr A. 25(2002) 157-164.