

# EMPLEO METODOLOGÍAS DE FLUJO Y TECNICAS SEPARATIVAS PARA EL ANALISIS DE CONTAMINANTES EMERGENTES Y PRIORITARIOS PRESENTES EN MATRICES DE ALIMENTOS Y MEDIOAMBIENTALES

Tesista: **Farm. Natalia González. Área III.**

Director: **Dra. Carolina Acebal. Área III. Departamento de Química. UNS.**

## Resumen

Durante este periodo, se desarrolló un nuevo sistema de cromatografía de inyección en flujo a baja presión (FIA-C) con detección de fluorescencia para el control toxicológico del fármaco hipoglucemiante glibenclamida (GLB) en bebidas con alto contenido de cafeína. Se optimizaron las variables químicas y del sistema. Se llevó a cabo la validación del método propuesto y el análisis de muestras de energizantes.

En un segundo trabajo, se procedió al uso de GLB como un fluoroforo para la determinación de manera indirecta de la concentración de cafeína, debido al fenómeno de disminución en la intensidad de fluorescencia que produce esta última sobre la GLB. Se trabajó con muestras de café, té, bebidas energizantes y muestras farmacéuticas.

**Introducción:** En primer lugar se desarrolló un método para la determinación de GLB en muestras de energizantes. Los agentes hipoglucemiantes de segunda generación como la GBA se asocian a episodios de sedación e hipoglucemia, por lo que el mencionado fármaco ha sido utilizado para efectuar actos delictivos al ser agregado a bebidas tanto alcohólicas como analcohólicas <sup>[1]</sup>.

El desarrollo de sistemas de análisis en flujo cromatográficos, que surgen de acoplar columnas monolíticas de corta longitud a sistemas en flujo (SIA, FIA) se presentan como una alternativa interesante para lograr la determinación de múltiples analitos de una manera más simple y de menor costo en comparación con un sistema convencional de cromatografía líquida <sup>[2]</sup>.

En la segunda parte, la cafeína (CF) es un alcaloide de la familia de las metilxantinas, una sustancia psicoactiva que se utiliza ampliamente a nivel mundial. La CF altera los patrones de emisión de fluorescencia del fármaco hipoglucemiante GLB, provocando la disminución de la fluorescencia (extinción o quenching) de esta última <sup>[3]</sup>. Por lo tanto, se empleó este efecto para determinar de manera indirecta la concentración de CF en matrices tanto de alimento como farmacéuticas.

**Resultados:** Los energizantes comerciales contienen una gran cantidad de compuestos, entre ellos CF en una alta concentración. Debido a que la CF disminuye la señal de fluorescencia de

la GLB, se llevó a cabo la separación de GLB de la matriz de muestra empleando una columna monolítica (Chromolith® Flash RP-18e, 25x4.6 mm) protegida con el guarda columnas correspondiente, y se acopló al sistema entre la válvula de inyección y la celda de flujo (25µl) colocada en el espectrofluorimetro ( $\lambda_{exc}$  298 nm;  $\lambda_{em}$  364 nm). Se llevó a cabo la optimización de las variables del sistema, tales como tipo de fase móvil (acetonitrilo/ácido acético pH 3,2), caudal (1,03 mLmin<sup>-1</sup>), volumen de inyección (50 µL).

El método propuesto fue evaluado en términos de linealidad (0,50-10,0 mg L<sup>-1</sup>), límite de detección (0,10mg L<sup>-1</sup>), repetibilidad (RSD: 0.58%), reproducibilidad (RSD: 1,68 %). Se analizaron cinco muestras comerciales obteniendo porcentajes de recuperación (RSD: 90,4-103,7 %).

En la segunda parte del trabajo se llevó a cabo el estudio de la interacción entre la CF y la GLB. Las muestras fueron preparadas en ácido acético pH 3,2 en ACN al 30%, se les agregó una concentración determinada de GLB (16 mg L<sup>-1</sup>), y luego se midió la señal de fluorescencia ( $\lambda_{exc}$  = 234 nm;  $\lambda_{em}$  = 352nm).

El gráfico de Stern-Volmer para explorar el mecanismo de extinción de fluorescencia fue empleado como curva de calibración obteniéndose los siguientes parámetros analíticos:  $\log I/I_0 = (0.008 \pm 0.001) x + (0.020 \pm 0.001)$ ,  $R^2 = 0.996$ , repetibilidad (RSD%) 0,75 (n=9), reproducibilidad (RSD%) 1,24. Se realizó el estudio del efecto de la temperatura (298 K, 306 K y 313 K) y del pH (3,2; 7,0; y 10,0) sobre el proceso de extinción. Se llevó a cabo la validación del método empleando HPLC y se aplicó a la determinación de CF en muestras de café, té, energizantes y analgésicos. Se llevó a cabo un test estadístico para la comparación de ambos métodos, con resultados satisfactorios ( $t_{calculado}=2,63$ ;  $t_{crítico}=3,18$ ).

**Conclusiones:** En una primera instancia el método desarrollado se aplicó con éxito a la determinación de GBA en muestras de energizantes adquiridas en comercios de la región. El uso de sistemas FIA-C acoplado a una columna monolítica permitió el desarrollo de un sistema rápido y sencillo para la detección de GBA en este tipo de muestras.

En la segunda parte de este periodo se propuso un método simple, rápido, y que requiere de instrumentación sencilla, para la determinación de CF en matrices de alimento y farmacéuticas empleando como fluoroforo el fármaco hipoglucemiante GLB.

#### Referencias:

- [1] D. Ribeiro, J. Lopes, J. Santos, J. Prior, Anal. Chem. 721(2012) 97-103.
- [2] D. Šatínský, J. Huclová, P. Solich, R. Karlíček, J Chromatogr A 1015 (2003) 239-244.
- [3] J. Lakowicz, Principles of Fluorescence Spectroscopy, 3rd Edn, Springer.