

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

**Desenvolvimento e Validação de Método para Determinação de  
Resíduos de Pesticidas na Planta Medicinal desidratada *Hyptis  
pectinata* utilizando DMFS e CG/EM**

**ADRIANO AQUINO**

**SÃO CRISTOVÃO/SE**

**2011**

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

**Desenvolvimento e Validação de Método para Determinação de Resíduos de Pesticidas em Planta Medicinal desidratada *Hyptis pectinata* utilizando DMFS e CG/EM**

Dissertação apresentada ao Núcleo de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Sergipe como requisito para a obtenção do título de Mestre em Química.

**ORIENTADOR: PROF. Dr. SANDRO NAVICKIENE**

**SÃO CRISTOVÃO/SE**

**2011**

*Este trabalho é dedicado  
especialmente à minha mãe  
Maria Aquina (in memorian) e às  
minhas irmãs Maria José dos  
Santos, Adriana Aquino e  
Patrícia Aquina pelas  
inspirações e pelos cuidados  
durante a minha infância e  
adolescência.*

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus, pelo dom da vida e aos meus familiares por acreditarem em meu potencial e por apoiarem em todas as etapas da vida.

À Renê e Claydson, pois sem a ajuda deles eu não estaria realizando este trabalho.

Aos meus irmãos João Bosco, Cleomenes e José Fernando.

Aos meus sobrinhos em especial Wendell e Caroline.

Aos meus amigos do Inácio Barbosa, em especial Yury, Thiago, Sheila, Enalda e Shirley pela grande amizade a pela companhia em grande parte da minha infância.

Um agradecimento muito especial ao meu orientador Prof. Sandro Navickiene por esses seis anos de valiosa dedicação, orientação, amizade e ensinamentos que enriqueceram o meu saber.

Ao prof. Haroldo Silveira Dórea por sua ajuda ao longo da graduação e do mestrado.

Ao prof. Severino Alves Júnior da Universidade Federal de Pernambuco do Departamento de Química por fornecer os polímeros de coodernação.

A Kaline pela parceria e contribuição.

Aos colegas de Graduação e Mestrado em Química: Adnívia, Ricardo, Gabriela, Joyce, Danilo, Tâmara, Cristiane, Mário e Givanilton.

Aos meus amigos: Hugo, Alan, Romário, Darlisson, Paloma, Wesley, Danielle, Givanildo, Niculau e Valéria.

A todos os colegas e amigos do LCP em especial Michel, Samia, Alex, Alain e Renata pela harmonia e alegria no laboratório e principalmente pelo carinho, agradeço.

Aos professores do Departamento de Química: Marcelo, Nivan, José do Patrocínio, Péricles, Valéria, Maria Eliane, Ledjane, Iara, Eunice, Carlos Alexandre e Maria de Lara.

Aos professores Paulo, Luciane e Alberto pelo clima de descontração e bom relacionamento profissional.

Agradecimento a CAPES pela bolsa de mestrado concedida.

Ao CNPq pelo financiamento do projeto intitulado por: “Cooperação Acadêmica UFS-UFSCar para o Fortalecimento do Programa de Pós-Graduação em Química aplicada ao Estudo de Recursos Naturais Renováveis do Estado de Sergipe”, Processo nº 620212/2008-8, coordenado pelo Prof. Péricles Barreto Alves.

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE FIGURAS.....</b>	<b>i</b>
<b>LISTA DE TABELAS.....</b>	<b>ii</b>
<b>LISTA DE ABREVIATURAS OU SIGLAS.....</b>	<b>iii</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>v</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>vi</b>
<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>1</b>
<b>2. REVISÃO DA LITERATURA.....</b>	<b>3</b>
2.1 <i>Hyptis pectinata</i> (L.) Poit (Sambacaitá).....	3
2.2 Controle de pragas.....	5
2.3 Pesticidas selecionados para o estudo.....	11
2.4 Técnicas utilizadas para extração de pesticidas em plantas medicinais.....	11
2.5 Dispersão da matriz em fase sólida (DMFS).....	12
2.6 Aplicação da dispersão da matriz em fase sólida em plantas medicinais.....	15
2.7 Características gerais de sorventes convencionais e polímeros de coordenação.....	16
2.8 Sorventes utilizados na dispersão da matriz em fase sólida para a extração de pesticidas em plantas medicinais.....	17
2.9 Cromatografia a gás acoplada ao espectrômetro de massas (CG/EM).....	19
<b>3. OBJETIVOS.....</b>	<b>23</b>
3.1 Geral.....	23
3.2 Específicos.....	23
<b>4. PARTE EXPERIMENTAL.....</b>	<b>24</b>
4.1 Materiais.....	24
4.1.1 Limpeza do material.....	24
4.2 Reagentes e padrões de pesticidas.....	24
4.3 Obtenção dos polímeros de coordenação .....	25
4.4 Preparação das soluções padrões.....	25

4.5 Aquisição, preparação e fortificação da amostras de <i>Hyptis pectinata</i> .....	26
4.6 Ensaios de recuperação.....	26
4.7 Procedimento de extração por DMFS.....	26
4.8 Equipamento e condições cromatográficas de análise.....	27
4.9 Validação do método analítico.....	28
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....</b>	<b>30</b>
5.1 Otimização das condições cromatográficas de análise.....	30
5.2 Efeito matriz.....	31
5.3 Desenvolvimento de método.....	35
5.4 Desenvolvimentos do método por DMFS.....	35
5.5 Limpeza do extrato da planta.....	39
5.6 Avaliação da eficiência de extração de pesticidas utilizando polímeros de coordenação.....	44
5.7 Validação do método.....	46
5.8 Parâmetros de validação para o método analítico.....	46
5.8.1 Seletividade.....	46
5.8.2 Linearidade do método.....	47
5.8.3 Limite de detecção e quantificação.....	51
5.8.4 Exatidão e Precisão.....	51
5.8.5 Aplicação do método.....	54
<b>6. CONCLUSÕES.....</b>	<b>54</b>
<b>7. REFERÊNCIAS.....</b>	<b>55</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>67</b>

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Planta medicinal <i>Hyptis pectinata</i> (L.) Poit (Sambacaitá); Adaptado de Lira, 2006.....	4
Figura 2: Etapas envolvidas no procedimento da dispersão da matriz em fase sólida. Adaptado de LLASERA <i>et al.</i> , 2005.....	13
Figura 3: Estrutura dos polímeros (A) CuBTC, (B) $[\text{Zn}(\text{BDC})(\text{H}_2\text{O})_2]_n$ e (C) MIL-53.....	19
Figura 4: Cromatógrafo a gás acoplado ao espectrômetro de massas modelo QP2010 Plus da Shimadzu.....	22
Figura 5: Fluxograma do método desenvolvido.....	27
Figura 6: Avaliação da eficiência de extração dos diferentes sorventes utilizando, a técnica DMFS.....	36
Figura 7: Influência da massa do sorvente nos valores médios percentuais de recuperação.....	37
Figura 8: Influência do solvente de eluição na recuperação, usando $\text{C}_{18}$ no procedimento DMFS.....	38
Figura 9: Eficiência na recuperação após lavagem com hexano.....	43
Figura10: Cromatogramas obtidos por CG/EM no modo SCAN (a) lavagem com 10 mL de hexano e eluição 20 mL de diclorometano com alumina neutra como sorvente; (b) lavagem com 10 mL de hexano e eluição com 20 mL de diclorometano e sorvente $\text{C}_{18}$ .....	44
Figura11: Valores percentuais de recuperação obtidos para os polímeros de coordenação.....	45
Figura12: Cromatogramas obtidos por CG/EM no modo SIM: (A) controle (B) cromatograma da solução composta dissolvida no extrato da matriz na concentração de $0,5 \mu\text{g g}^{-1}$ ; (C) extratos analisados no modo SIM. (1) pirimetanil, (2) ametrina, (3) diclofluanida, (4) tetricaconazol, (5) flumetralina, (6) cresoxim-metílico e (7) tebuconazol, respectivamente. Para as condições cromatográficas de análise ver item “Equipamentos”. 4.8.....	47
Figura13: Curvas de regressão linear para os pesticidas estudados obtidas no extrato da matriz.....	49

## LISTA DE TABELAS

Tabela1:	Classificação dos pesticidas quanto ao grupo químico, modo de ação, forma de atuação, classe toxicológica e fórmula molecular.....	8
Tabela 2:	Propriedades físico-químicas dos pesticidas estudados.....	10
Tabela 3:	Solubilidade dos pesticidas em diclorometano e hexano.....	10
Tabela 4:	Aplicações típicas da dispersão da matriz em fase sólida.....	14
Tabela 5:	Relatos de aplicação de dispersão da matriz em fase sólida em plantas medicinais.....	15
Tabela 6:	Condições de análise operando o espectrômetro de massas no modo SIM.....	32
Tabela 7:	Dados de calibração no extrato da matriz e no solvente .....	34
Tabela 8:	Valores das razões dos coeficientes angulares (extrato da matriz/ solvente).....	34
Tabela 9:	Avaliação da melhor combinação sorvente/solvente para a obtenção do extrato com menor presença de compostos da matriz.....	41
Tabela 10:	Dados de regressão linear da curva de calibração.....	50
Tabela11:	Limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ) do método MSPD desenvolvido.....	51
Tabela12:	Eficiência da recuperação e coeficientes de variação do método DMFS para determinação de pesticidas em <i>Hyptis pectinata</i> (n=4).....	53

## **LISTA DE ABREVIATURAS OU SIGLAS**

- ANVISA – AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA
- BTC – BENZENO-1, 3, 5-TRICARBOXILATO
- C8 – OCTILSILANO
- C18 – OCTADECILSILANO
- DCE – DETECTOR CAPTURA DE ELÉTRONS
- CG – CROMATOGRAFIA GASOSA
- CV – COEFICIENTE DE VARIAÇÃO
- DAD – DETECTOR DE ARRANJO DE DIODOS
- DCM – DICLOROMETANO
- DMFS – DISPERSÃO DA MATRIZ EM FASE SÓLIDA
- EFS – EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA
- EI – MODO DE IONIZAÇÃO POR ELÉTRONS
- ELL – EXTRAÇÃO LÍQUIDO-LÍQUIDO
- EM – ESPECTROMETRIA DE MASSAS
- EP – FARMACOPÉIA EUROPÉIA
- EPA – AGENCIA DE PROTEÇÃO AMBIENTAL
- EUA – ESTADOS UNIDOS DA AMÉRICA
- HCB – HEXACLOROBENZENO
- HCH – HEXACLOROCICLOHEXANO
- HPLC – CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA
- INMETRO – INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, NORMALIZAÇÃO E QUALIDADE INDUSTRIAL
- LD – LIMITE DE DETECÇÃO
- LMR – LIMITE MÁXIMO DE RESÍDUOS

LQ – LIMITE DE QUANTIFICAÇÃO

MIL= MATERIAL FROM INSTITUT LAVOISIER

MOF – METAL-ORGANIC FRAMEWORK

*m/z* – RELAÇÃO MASSA CARGA

DFI – DETECTOR DE FOTOIONIZAÇÃO

PPDB – PESTICIDE PROPERTIES DATABASE

$r^2$  – COEFICIENTE DE DETERMINAÇÃO

SCAN – VARREDURA LINEAR

SFE – EXTRAÇÃO POR FLUIDO SUPERCRÍTICO

SIM – MONITORAMENTO DE ÍONS SELECIONADOS

UV – ULTRAVIOLETA

## RESUMO

*Hyptis pectinata* (L.) Poit (Sambacaitá) é uma planta medicinal muito utilizada no estado de Sergipe para o tratamento de doenças de pele, desordem gástrica, rinofaringite, congestão nasal, febre e várias infecções causadas por bactérias e fungos. A *Hyptis pectinata*, assim como outras plantas medicinais, estão sujeitas a contaminação por pesticidas que são utilizados na agricultura, cujos resíduos podem causar danos ao homem e ao meio ambiente, devido à elevada toxicidade desses produtos. No Brasil não há valores de limites máximos de resíduos (LMR) estabelecidos para pesticidas em plantas medicinais. Do mesmo modo, há pouca informação quanto ao grau de contaminação destes recursos fitoterápicos. Portanto, métodos analíticos têm de ser desenvolvidos para determinação de resíduos em plantas medicinais, com intuito de assegurar a saúde da população. Neste contexto, este trabalho propôs o desenvolvimento de um método analítico para a determinação de pirimetanil, ametrina, diclofluanida, tetriconazol, flumetralina, cresoxim-metílico e tebuconazol em *Hyptis pectinata*, empregando a dispersão da matriz em fase sólida (DMFS) e cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG/EM). Para tanto, foram avaliados as melhores combinações sorvente/solvente (sílica gel, Florisil®, alumina neutra e polímeros de coordenação  $[Zn(BDC)(H_2O)_2]_n$ , CuBTC, MIL-53/diclorometano, diclorometano:acetato de etila (1:1, v/v) e acetato de etila), na extração simultânea destes pesticidas. Dentre as combinações avaliadas, o sistema constituído de 0,5 g de C<sub>18</sub> e 20 mL de diclorometano foi a mais eficiente, obtendo recuperações entre 85 e 127%, com desvio padrão relativo entre 4 e 15%, nos níveis de concentração 0,05; 0,1; 0,5 e 1,0  $\mu\text{g g}^{-1}$ . As linearidades foram acima de 0,9987 e os limites de detecção foram entre 0,02 e 0,07  $\mu\text{g g}^{-1}$  e de quantificação, 0,05 e 0,1  $\mu\text{g g}^{-1}$ . Entre as fases poliméricas (CuBTC, MIL-53 e  $[Zn(BDC)(H_2O)_2]_n$ ), o  $[Zn(BDC)(H_2O)_2]_n$  foi a mais eficiente na extração de pirimetanil (83%), ametrina (95%), diclofluanida (90%), tetriconazol (81%), flumetralina (74%) e cresoxim-metílico (94%), sendo portanto uma alternativa viável a substituição do sorvente convencional C<sub>18</sub>.

Palavras-chave: *Hyptis pectinata*; Pesticidas; Polímeros de coordenação; CG/EM; DMFS

## ABSTRACT

The *Hyptis pectinata* (L.) Poit is a medicinal plant widely used in the Sergipe state for the treatment of skin illnesses, gastric clutter, nasal congestion and inflammation caused for bacteria and fungi. *Hyptis pectinata*, as well as other medicinal plants, can be contaminated with pesticides that are used in the agriculture, and residues cause damages to the man and the environment, due the toxicity of these products. In Brazil values of maximum residue limits (LMR) have not yet been established for pesticides in medicinal plants. In a similar way, it has little information about to the degree of contamination of these phytotherapeutic resources. Therefore, analytical methods have been developed for determination of residues in medicinal plants, with intention to assure the health of the population. In this context, this work considered the development of an analytical method for the extraction of pyrimethanil, ametryn, dichlofluanid, tetraconazole, flumetralin, kresoxim-methyl and tebuconazole from the medicinal plant *Hyptis pectinata* using the matrix solid-phase dispersion (MSPD) and gas chromatography-mass spectrometry (GC/MS). Therefore, in the present study, the aim was evaluating the combinations adsorvent/solvent (silica gel, Florisil®, neutral alumina and coordination polymers  $[\text{Zn}(\text{BDC})(\text{H}_2\text{O})_2]_n$ , CuBTC and MIL-53/dichloromethane, dichloromethane:ethyl acetate (1:1, v/v) and ethyl acetate), for the simultaneous extraction of these pesticides. Amongst the evaluated combinations, the one consisting of 0.5 g of C<sub>18</sub> and 20 mL of dichloromethane was most efficient, getting recoveries between 85 and 127%, with relative standard between 4 and 15%, in the levels of concentration 0.05; 0.1; 0.5 and 1.0  $\mu\text{g g}^{-1}$ . The linearity was above 0.9987 and the limits of detection between 0.02 and 0.07  $\mu\text{g g}^{-1}$  and of quantification, 0.05 and 0.1  $\mu\text{g g}^{-1}$ . Among the polymeric phases (CuBTC, MIL-53 and  $[\text{Zn}(\text{BDC})(\text{H}_2\text{O})_2]_n$ ),  $[\text{Zn}(\text{BDC})(\text{H}_2\text{O})_2]_n$  was most efficient in the extraction of pyrimethanil (83%), ametrin (95%), dichlofluanid (90%), tetraconazole (81%), flumetralin (74%) and kresoxim-methyl (94%), being therefore a viable alternative to the adsorvent commercial conventional C<sub>18</sub>.

Keyword: *Hyptis pectinata*; Coordination polymer; Pesticides; CG/MS; MSPD

## 1. INTRODUÇÃO

O uso terapêutico de plantas medicinais tem base na tradição familiar e tornou-se prática generalizada na medicina popular. Atualmente, muitos fatores têm contribuído para o aumento na demanda destes recursos, dentre eles, o custo dos medicamentos, o difícil acesso da população à assistência médica e os efeitos colaterais de fármacos sintéticos (ZARONI *et al.*, 2004; MAMANI *et al.*, 2005; RODRIGUES *et al.*, 2007).

No ano de 2000 os produtos a base de plantas medicinais movimentaram cerca de 30 bilhões de dólares. Aliado a isso, a Organização Mundial da Saúde (OMS) estima que 80% das pessoas dependam da medicina tradicional, em especial nos países em desenvolvimento. Como consequência do aumento no consumo, as indústrias vêm produzindo produtos a base de vegetais, que são comercializados livremente em farmácias, supermercados, casas de produtos naturais e pelos tradicionais erveiros (MELLO *et al.*, 2007; ZUIN e VILEGAS, 2000).

Contudo não há uma garantia para a grande maioria dos produtos comercializados quanto à qualidade e eficácia, visto que as plantas medicinais estão sujeitas a diversos tipos de contaminação, como por exemplo, resíduos de pesticidas (ABOU-ARAB *et al.*, 1999; ABOU-ARAB e DONIA, 2001; KOSALEC *et al.*, 2009). Os pesticidas são produtos químicos utilizados no controle e combate de pragas e ervas daninhas; porém são potencialmente tóxicos ao homem, podendo causar efeitos adversos ao sistema nervoso central e periférico, ter ação imunodepressora ou ser cancerígeno, entre outras (CALDAS e SOUZA, 2000).

A contaminação das plantas medicinais por pesticidas podem ocorrer diretamente (pulverizações em cultivo de plantas medicinais), ou indiretamente durante a aplicação em áreas vizinhas (ZUIN *et al.*, 2004; RODRIGUES *et al.*, 2007). No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) regulamenta quanto ao limite máximo de resíduos (LMR) de pesticidas em matrizes ambientais e alimentares (JARDIM *et al.*, 2009). No entanto, não há limites estabelecidos para plantas medicinais. Neste contexto, torna-se muito importante o desenvolvimento

de métodos analíticos para a determinação dos resíduos destes compostos com intuito de avaliar a presença de contaminantes nestes recursos fitoterápicos.

## 2. REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1. *Hyptis pectinata* (L.) Poit (Sambacaitá)

O Brasil possui uma flora extremamente rica com cerca de 55 mil espécies conhecidas. Dentre as plantas catalogadas, 10 mil podem ser consideradas como medicinais e/ou aromáticas (SILVA *et al.*, 2002). Na região nordeste do Brasil há uma alta diversidade de espécies de plantas nativas, tais como as do gênero *Hyptis*, que possuem propriedades medicinais e que são comumente utilizadas na medicina popular (ARRIGONI-BLANK *et al.*, 2008).

O gênero *Hyptis* possui 400 espécies distribuídas nas Américas, no oeste da África, Oceania, e Ocidente da Índia. As plantas deste gênero apresentam elevada importância sócio-econômica por serem usadas na ornamentação e na culinária, além de fornecer óleos essenciais aromáticos (SANTOS *et al.*, 2008).

A espécie *Hyptis pectinata* (L.) Poit, pertencente à família da Lamiaceae, reproduz anualmente com ciclo de 120 dias. A planta adulta se caracteriza por possuir caules eretos, estriados longitudinalmente, com ramificações na parte superior com ramos ascendentes, terminados em inflorescências de aspecto aglomerado compostas por flores pequenas, pentâmeras, zigomorfas e bilabiadas (LIRA, 2006). Esta erva é popularmente conhecida no Brasil como Sambacaitá ou canudinho (NASCIMENTO *et al.*, 2008) e cresce em áreas selvagens ou são cultivadas próximo a casas nos estados de Alagoas e Sergipe (ARRIGONI-BLANK *et al.*, 2008). A Figura 1 mostra a fotografia da planta medicinal *Hyptis pectinata* descrita acima.



**Figura 1:** Planta medicinal *Hyptis pectinata* (L.) Poit (Sambacaitá); Adaptado de Lira, 2006.

No estado de Sergipe, a *Hyptis pectinata* (L.) Poit tem sido recomendada no tratamento de inflamações, dor, câncer e como cicatrizante (MELO *et al.*, 2005) e indicada na forma de chá (infusões ou decocções) no tratamento de doenças de pele, desordem gástrica, rinofaringite, congestão nasal, febre e várias infecções causadas por bactérias e fungos (NASCIMENTO *et al.*, 2002).

A *Hyptis pectinata* (L.) Poit, assim como as outras plantas medicinais estão sujeitas a contaminação. Os dados da literatura comprovam que a presença de pesticidas em plantas medicinais é freqüente (ZUIN *et al.*, 2004; ABHILASH *et al.*, 2008). Algumas avaliações da qualidade realizadas com uma série de fitoterápicos mostraram que 86% possuíam algum tipo de problema, tais como: presença de partes de insetos e animais, resíduos de pesticidas, terra e outros produtos desconhecidos (STASI, 2007).

## 2.2. Controle de pragas

O aumento populacional e a crescente demanda de alimentos têm motivado o uso de grandes quantidades de pesticidas nas plantações (SANCHES *et al.*, 2003), tornando-se a principal estratégia na agricultura para o combate e a prevenção de pragas e doenças (CALDAS e SOUZA, 2000; CAI *et al.*, 2003); permitindo um ganho significativo na produção agrícola (LEE *et al.*, 2009), e garantindo, alimento suficiente e de qualidade para a população (MORENO *et al.*, 2008).

O fato dos pesticidas ainda constituírem a principal estratégia na agricultura, colocou o Brasil entre os maiores mercados consumidores do mundo (SILVA *et al.*, 2010). No entanto, o aumento do consumo nas culturas agrícolas tem causado riscos à saúde humana, devido à contaminação das plantas utilizadas para fins alimentares e medicinais por resíduos de pesticidas (ABOU-ARAB *et al.*, 1999).

A aplicação de pesticidas nas culturas gera além de benefícios, grandes problemas ao homem (COUTINHO *et al.*, 2005; DÓREA *et al.*, 2004). Atualmente estão registrados cerca de 600 ingredientes ativos, que foram utilizados em formulações para uso específico. Destes, 350 contribuem com 98% dos pesticidas mais utilizados, sendo que 80% são rotineiramente usados em países da América do Sul (GALLI *et al.*, 2006).

Os produtos que são aplicados nas culturas compreendem uma ampla variedade de substâncias químicas com diferentes grupos funcionais e, consequentemente, diversos modos de atuação, biotransformação e eliminação. Alguns produtos são compostos por grupos químicos como organoclorados, carbamatos, organofosforados, piretróides, derivados de uréia, estrobilurinas, anilinopirimidinas, sulfamidas, triazóis, dentre outros, que podem atuar de forma sistêmica ou não (GALLI *et al.*, 2006; ANVISA, 2010).

Exemplos de pesticidas do grupo dos triazóis são tetriconazol e tebuconazol, os quais são usados na agricultura para o combate e o controle de fungos em plantações de banana, manga, batata, cenoura dentre outras. A

formulação 125SL Eminent que contém tetriconazol 11,6%, em massa, em fase líquida, é utilizada no controle da Mancha Foliar causada pelo fungo *Cercospora beticola* e de Oídio na cultura da beterraba sacarina. Os produtos a base de tebuconazol como, por exemplo, Elite®, possui funções básicas na agricultura que incluem a eliminação de fungos, tais como: *Blumeriella spp*, *Botryosphaeria spp*, *Botrytis spp*, *Cercospora spp* e *Curvularia spp* (ANVISA, 2010; EPA, 2010; BAYER, 2010; TOUREIRO *et al.*, 2007).

Os pesticidas das classes das anilinopirimidinas (pirimetanil, Mythos®), sulfamidas (diclorofluanida; Euparen®) e estrobilurinas (cresoxim-metílico; Stroby®) podem ser aplicados na agricultura para o controle de fungos em diversas plantações. Reguladores do crescimento como a flumetralina (Prime+®) e herbicidas como a ametrina (Gesapax®) possuem efeitos diferentes dos demais pesticidas citados, pois atuam no combate e controle de ervas daninhas (EPA, 2010). A Tabela 1 mostra a forma de atuação, modo de ação, classificação toxicológica, classe química e fórmula molecular, a Tabela 2, as propriedades físico-químicas e a Tabela 3, a solubilidade em solvente orgânico dos pesticidas selecionados para este estudo.

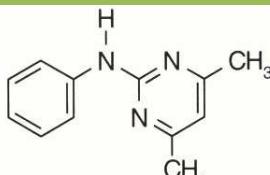
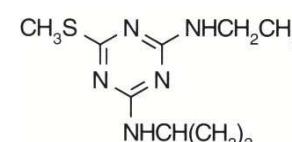
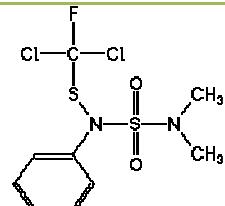
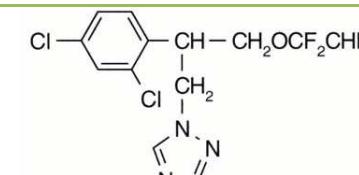
O uso inadequado destes produtos químicos pode causar danos ao meio ambiente, pela eliminação de organismos que são essenciais ao sistema biótico e causar efeito adverso à saúde humana (DELGADO e PAUMGARTTEN, 2004). A preocupação quanto à presença de pesticidas no solo, ar, em alimentos, água e em plantas medicinais tem motivado trabalhos, como o realizado por Carvalho e colaboradores (2009) que desenvolveram um método para a determinação de pesticidas de diferentes classes químicas em planta medicinal *Cordia salicifolia* (FANG *et al.*, 2009; CARVALHO *et al.*, 2009; STASI, 2007).

A preocupação em desenvolver métodos para a determinação de resíduos de pesticidas surgiu devido a falta de limites máximos de resíduos (LMR) estabelecido para pesticidas de diferentes classes químicas em plantas medicinais. Visto que os produtos a base da plantas medicinais assim, como os demais, estão sujeitos a contaminações. Para plantas medicinais estão registrados na Farmacopéia Européia somente LMR para os pesticidas pertencentes aos grupos

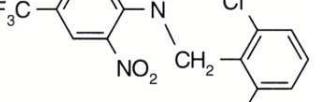
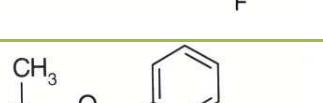
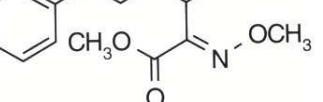
químicos dos organoclorados e organofosforados (ABHILASH, 2008; ZUIN, *et al.*, 2003; ZUIN, *et al.*, 2004).

Os órgãos governamentais estabelecem limites máximos de resíduos para diferentes produtos consumidos pela população, os quais são baseados nos índices de exposição (avaliação do risco crônico por meio da dieta ou consumo de alimentos contaminados) (MORENO *et al.*, 2008; JARDIM *et al.*, 2009; CALDAS e SOUZA, 2000). Nesse sentido, a avaliação do nível de contaminação é de fundamental importância, pois assegura a qualidade dos produtos que estão disponíveis para a população.

**Tabela 1:** Classificação dos pesticidas quanto ao grupo químico, modo de ação, forma de atuação, classe toxicológica e formula molecular.

Pesticida	Formula molecular	Grupo químico	Modo de ação	Forma de atuação	Classe toxicológica
<b>Pirimetanil</b>		anilinopirimidina	Fungicida	sistêmico	mediamente tóxico
<b>Ametrina</b>		triazina	Herbicida	sistêmico	mediamente tóxico
<b>Diclofluanida</b>		sulfamida	fungicida e carrapaticida	-	-
<b>Tetraconazol</b>		triazol	Fungicida	não sistêmico	altamente tóxico

## Continuação Tabela 1

<b>Flumetralina</b>		dinitroanilina	regulador de crescimento	sistêmico	-
<b>Cresoxim-metilico</b>		estrobilurina	Fungicida	sistêmico	mediamente tóxico
<b>Tebuconazol</b>		triazol	Fungicida	sistêmico	pouco tóxico

**Fonte:** Agência de Vigilância Sanitária (ANVISA), 2010.

**Tabela 2:** Propriedades físico-químicas dos pesticidas estudados.

Pesticida	Ponto de ebulação (°C)	Pressão de vapor (mPa), 20-25°C	log Kow*	Solubilidade (g L <sup>-1</sup> ) em água
<b>Pirimetanil</b>	–	1,1	2,8	0,121
<b>Ametrina</b>	345	0,365	2,6	0,200
<b>Diclofluanida</b>	–	3,79x10 <sup>-2</sup>	3,7	0,0013
<b>Tetraconazol</b>	240	0,18	3,6	0,15
<b>Flumetralina</b>	–	0,032	5,4	0,07 x10 <sup>-3</sup>
<b>Cresoxim-metílico</b>	–	2,3 x 10 <sup>-3</sup>	3,4	0,002
<b>Tebuconazol</b>	476	1,3x10 <sup>-3</sup>	3,7	0,036

\* coeficiente de partição água octanol.

**Fonte:** Pesticide Properties DataBase (PPDB)

**Tabela 3:** Solubilidade dos pesticidas em diclorometano e hexano.

Pesticidas	Diclorometano (g/100mL)	Hexano (g/100mL)
<b>Pirimetanil</b>	–	
<b>Ametrina</b>	60	1,4
<b>Diclofluanida</b>	>20	0,2-0,5
<b>Tetraconazol</b>	Relativamente solúvel	–
<b>Flumetralina</b>	Muito solúvel	–
<b>Cresoxim-metílico</b>	–	–
<b>Tebuconazol</b>	20	0,02-0,05

**Fonte:** MILNE, 2004

### **2.3. Pesticidas selecionados para o estudo**

A seleção dos pesticidas para o estudo baseou-se nos principais tipos de aplicação, tais como: diretamente na planta durante o período de crescimento (herbicidas e reguladores do crescimento), bem como as realizadas pós-colheita (fungicidas), sendo os fungicidas os produtos com maiores possibilidades de serem encontrados em plantas medicinais, em decorrência da grande utilização (JARDIM *et al.*, 2009; ZUIN *et al.*, 2004; NAVICKIENE e RIBEIRO, 2002). A seleção dos pesticidas também foram baseadas no modo da ação, sendo este relacionado com as principais culturas do estado de Sergipe, como: banana, batata, fumo, cebola dentre outras.

### **2.4. Técnicas utilizadas para extração de pesticidas em plantas medicinais**

Antes da determinação de resíduos de pesticidas por técnicas instrumentais, na maioria dos casos, são necessárias etapas que consistem basicamente na extração dos analitos da matriz e na remoção dos interferentes (limpeza), que envolve a separação, identificação e quantificação do princípio ativo (PINHO *et al.*, 2009; RODRIGUES *et al.*, 2007).

Técnicas como fluido supercrítico, extração em fase sólida, microextração em fase sólida e a dispersão da matriz em fase sólida, podem ser utilizadas para a extração de pesticidas em amostras de plantas medicinais (HO *et al.*, 2001; HUI, 2002; CARVALHO *et al.*, 2009).

## 2.5. Dispersão da matriz em fase sólida (DMFS)

A dispersão da matriz em fase sólida é uma técnica de extração desenvolvida por Barker, no ano de 1989, para a aplicação em matrizes sólidas, semi-sólidas e amostras biológicas com elevada viscosidade (BARKER, 2000). A técnica consiste na utilização de um sorvente ou suporte sólido que atua como agente abrasivo, com intuito de produzir uma modificação (abertura) na arquitetura da matriz sólida, facilitando assim o processo de extração, efetuada por um solvente apropriado para a eluição dos analitos de interesse (DAWIDOWICZ e RADO, 2010; VISNEVSCHI-NECRASOV, 2009).

A DMFS diferentemente das convencionais técnicas de extração líquido-líquido e extração em fase sólida, proporciona a extração dos analitos e a limpeza dos extratos simultaneamente (PINHO *et al.*, 2010; Qi, 2010), bem como apresenta algumas vantagens como: utilização de pequena quantidade de amostra e moderado consumo de solventes orgânicos (MAFFEI *et al.*, 2009; DÓREA *et al.*, 2004)

Na dispersão da matriz em fase sólida, durante o processo de extração, ocorre à distribuição da matriz em um suporte sólido (Florisil®, alumina, sílica gel, C<sub>18</sub>, C<sub>8</sub> entre outros), seguida da destruição da estrutura, possibilitando a dispersão dos compostos no suporte sólido (MOREDA-PIÑEIRO *et al.*, 2009), formando um homogeneizado, que é transferido para uma coluna (polietileno ou outro material inerte), e eluido com solvente adequado. A Figura 2 ilustra as etapas do procedimento da dispersão da matriz em fase sólida.



**Figura 2:** Etapas envolvidas no procedimento da dispersão da matriz em fase sólida. Adaptado de LLASERA *et al.*, 2005.

A DMFS pode ser aplicada em diversas matrizes, cujo estado físico é um fator muito importante (MAFFEI *et al.*, 2009). Ferrer e colaboradores, 2005, utilizaram a dispersão da matriz em fase sólida para a extração de resíduos de pesticidas em amostras de óleo e óleo de oliva, utilizando como sorvente aminopropil, co-sorvente o Florisil®, eluição com acetonitrila e analisaram por cromatografia a gás e líquida acopladas à espectrometria de massas. Na Tabela 4 estão listadas outras aplicações da DMFS.

**Tabela 4 : Aplicações da dispersão da matriz em fase sólida**

Referência	Matriz	Analito	Sorvente	Co-sorvente	Solvente	Análise instrumental
<b>Wang et al., 2009</b>	tecido suíno	pesticidas e drogas veterinária	$C_{18}$	-	8mL ACN	LC-UV/DAD
<b>Llasera, 2009</b>	fígado e músculo bovino	Pesticidas	$C_{18}$	Sílica	15 mL ACN	LC-UV/DAD
<b>Fernandes e Soares, 2007</b>	batata frita	Acrilamidas	$C_{18}$	-	4 mL +4 mL de água	CG/EM
<b>Minuti e Pellegrino, 2008</b>	Vinho	compostos fenólicos	sílica gel	-	5 mL acetato de etila	CG/EM
<b>Sánchez-Brunete et al., 2007</b>	lama de água de esgoto	hidrocarbonetos policíclicos aromáticos	$C_{18}$	-	10 mL ACN	CG/EM
<b>Dórea et al., 2004</b>	Quiabo	Pesticidas	sílica gel	alumina neutra	40 mL acetato de etila	CG/EM
<b>Aquino e Navickiene, 2009</b>	Banana	Pesticidas	sílica gel	-	40 mL hexano:acetato de etila (1:4, v/v)	CG/EM
<b>Silva et al., 2007</b>	polpa de coco	Pesticidas	$C_{18}$	Florisil®	40 mL acetonitrila:hexano	CG/EM

ACN=acetonitrila

## 2.6. Aplicação da dispersão da matriz em fase sólida em plantas medicinais

A literatura relata algumas aplicações da técnica de dispersão da matriz em fase sólida para a extração de resíduos de pesticidas em plantas medicinais. Abhilash e colaboradores (2008) empregaram a dispersão da matriz em fase sólida para a extração de resíduos de lindano e de isômeros do  $\alpha$ -HCH em plantas medicinais, vegetais, frutas e trigo, utilizando CG/DCE. Carvalho e colaboradores (2009b) desenvolveram um método baseado na DMFS para a extração de acefato, clorprofan, pirimicarb, bifentrina, tetradiiona, fosalone com análise por CG-EM. Zuin e colaboradores (2003) compararam a eficiência de extração da dispersão da matriz em fase sólida com o método convencional de extração de resíduo de pesticidas estabelecido pelo F.E. (Farmacopéia Européia), o qual requer uma grande quantidade de amostra e volume de solvente. Atualmente Qi (2010), desenvolveu um método utilizando a dispersão da matriz em fase sólida seguida por ultrassom para a extração de pentaclorobenzeno, metil pentacloro-fenilsulfato e procimidona em extrato de ginseng. A Tabela 5 relata aplicações da dispersão da matriz em fase sólida para a extração de diferentes pesticidas em plantas medicinais.

**Tabela 5:** Relatos de aplicação de dispersão da matriz em fase sólida em plantas medicinais.

Referência	Analito	Grupo químico	Solvente de extração	Sorvente	Análise instrumental
<b>Abhilash et al., 2008</b>	pesticidas	organoclorado	hexano/acetato de etila (7:3,v/v;10 mL)	Florisil®	CG-DCE
<b>Carvalho et al., 2009</b>	pesticidas	organofosforado, carbamato, piretróide, clorodifenilsulfona,	ciclohexano: diclorometano (3:1,v/v; 30 mL)	alumina neutra	CG/EM
<b>Qi. 2010</b>	pesticidas	dicarboximida, organoclorado	hexano/acetato de etil (3:7,v/v; 5 mL)	Florisil®	CG-DCE
<b>Zuin et al., 2003</b>	pesticidas	organoclorado e organofosforado	hexano/acetato de etil (7:3,v/v; 5 mL)	Florisil®	CG-DCE

Nas aplicações da dispersão da matriz em fase sólida, é verificada a necessidade de avaliação da melhor combinação entre sorvente/solvente. Dentre os sorventes avaliados para a extração de resíduos de pesticidas, ou retenção dos compostos interferentes da matriz, está o C<sub>18</sub>; este foi utilizado por Carvalho e colaboradores (2009b) como sorvente auxiliar para a retenção de interferentes apolares presentes na *Cordia salicifolia*, e a alumina neutra foi empregada com a função de agente dispersante. A eluição dos analitos foi realizada com 30 mL da mistura de ciclohexano:diclorometano (3:1,v/v).

O sorvente Florisil® foi utilizado como agente dispersante em trabalhos desenvolvidos por Abhilash e colaboradores (2008), Qi (2010) e Zuin e colaboradores (2003), sendo que, foi empregado como solvente de eluição uma mistura de hexano e acetato de etila, diferenciando somente nas proporções e volumes, os quais foram (7:3,v/v; 10 mL); hexano/acetato de etil (3:7,v/v; 5 mL) e hexano/acetato de etila (7:3,v/v; 5 mL), respectivamente. Os métodos desenvolvidos foram validados e aplicados em amostras reais.

## **2.7. Características gerais de sorventes convencionais e polímeros de coordenação**

Em geral, a sílica gel (SiO<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-OH é empregada diretamente como sorvente ou utilizada na preparação de sorventes conhecidos como sílica ligada fisicamente. Este sorvente possui uma superfície ligeiramente ácida que facilita a retenção dos compostos com características básicas. Um dos problemas do uso da sílica como agente dispersante é a fácil adsorção da umidade proveniente do ambiente, causando a diminuição de sítios disponíveis para a adsorção dos compostos de interesse (LANÇAS, 2004a). Alumina (Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>)<sub>n</sub> diferentemente da sílica possui caráter anfótero, ou seja, possui caráter ácido ou básico (a depender do grupo funcional presente), sendo geralmente empregada na separação de compostos lipofílicos (COLLINS *et al.*, 2006; LANÇAS, 2004a).

O Florisil  $[Mg.Al(SiO_4)_n]$  dentre os sorventes de fase normal é o de maior polaridade e pode ser utilizado na análise de compostos polares (LANÇAS, 2004a; PINHO *et al.*, 2009).

Sorventes de fase reversa como octadecilsilano ( $C_{18}$ ), octilsilano ( $C_8$ ) possuem características lipofílicas que facilita o rompimento, dispersão e retenção de espécies apolares (KRISTENSON *et al.*, 2006). Estas fases surgiram na década de 1960 e visavam evitar problemas de adsorção irreversível de compostos polares que ocorriam na sílica gel, alumina e em outros sorventes polares (LANÇAS, 2004a). Além dos citados, os polímeros de coordenação podem ser utilizados como agente dispersante na dispersão da matriz em fase sólida.

Os polímeros de coordenação são uma extensa classe de materiais cristalinos que vêm se destacando devido à sua grande estabilidade, estruturas cristalinas bem definidas e ampla funcionalidade orgânica. Devido ao grande número de moléculas orgânicas existentes e suas diversas formas de coordenação, as possibilidades de desenvolvimento de novos materiais são amplas. Esses compostos apresentam geralmente um átomo central (íon metálico) coordenado a moléculas orgânicas (ligantes), em que essa unidade metal-ligante se repete formando uma rede polimérica de complexos metálicos, sendo muitas vezes conhecido por material metalorgânico pela presença de uma unidade inorgânica e outra orgânica. A elevada especificidade na obtenção de diferentes compostos e funcionalidade dependem da escolha do ligante orgânico e do íon metálico adequado. Assim, muitos materiais são sintetizados e avaliados a capacidade catalítica, adsorptiva, absorptiva dentre outras (WANDERLEY, 2010).

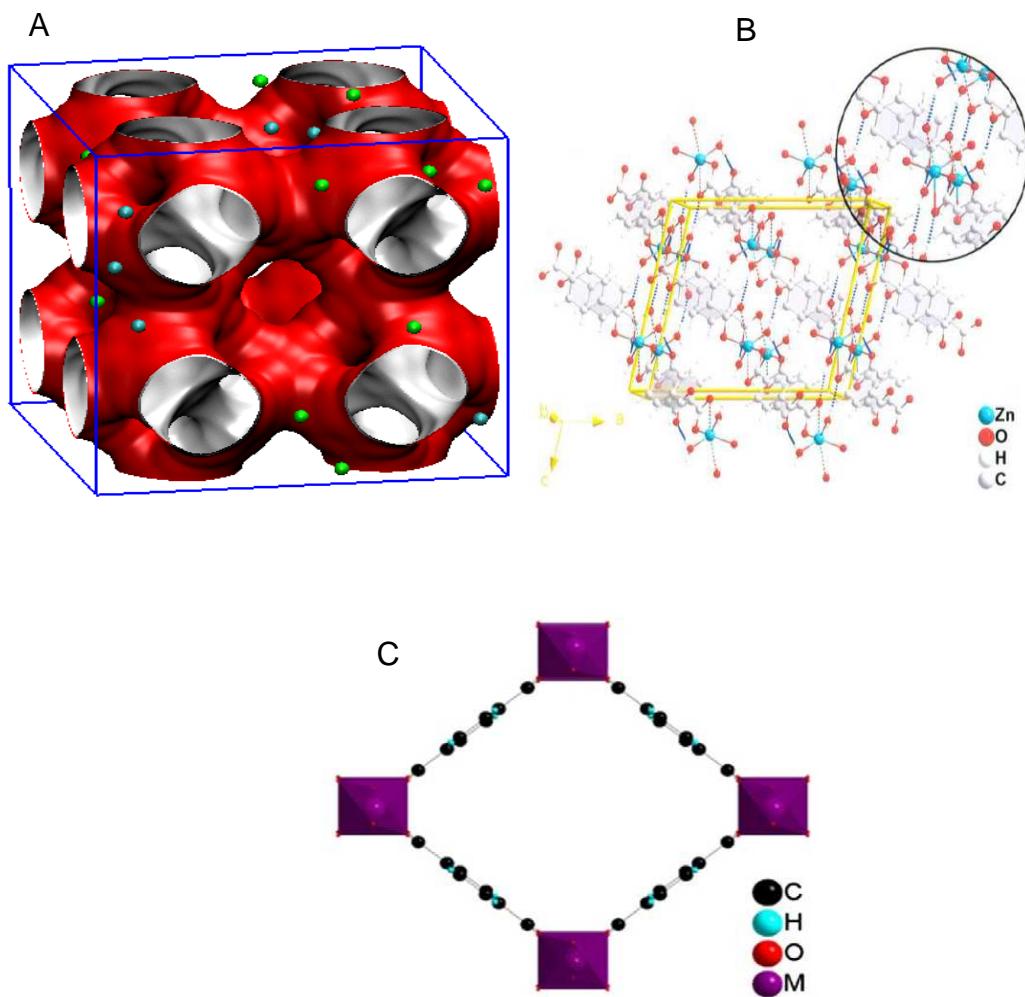
## 2.8. Sorventes utilizados na dispersão da matriz em fase sólida para a extração de pesticidas em plantas medicinais

A literatura descreve trabalhos que relatam a utilização de materiais alternativos como sorvente para extração de resíduos de pesticidas em plantas medicinais e alimentares. Algumas aplicações da DMFS, tais como a de Perret e colaboradores (2002), que utilizaram areia ou terra diatomácea como sorvente para a extração de ometoato, dimetoato, carbendazim, propoxur, tiabendazol, carbaril,

pirimicarb, azinfós-metílico, metidationa e iprodiona em suco de frutas, bem como a de Carvalho e colaboradores (2009a), que avaliaram a eficiência de extração do material polimérico ( $\infty$ [Gd(DPA)(HDPA)]) na extração de acefato, cloroporfam, pirimicarb, bifentrina, tetradifona, fosalone em planta medicinal *Cordia salicifolia*. Assim como as aplicações citadas, neste trabalho foi avaliada a eficiência do material polimérico  $[Zn(BDC)(H_2O)_2]_n$  na extração de resíduos de pirimetanil, ametrina, diclofluanida, tetriconazol, flumetalina, cresoxim-metílico e tebuconazol em plantas medicinais. O polímero de coordenação  $[Zn(BDC)(H_2O)_2]_n$  é um material constituído por interações covalentes e intermoleculares fracas. Estas interações motivaram estudos para a aplicação deste material em dispositivos eletromagnéticos, estudos de catálise e em processos de separação (LI-NA *et al.*, 2002). Contudo, a literatura não registra a utilização do polímero  $[Zn(BDC)(H_2O)_2]_n$  como sorvente para a extração de contaminantes. Portanto, a eficiência do polímero na extração de pirimetanil, ametrina, diclofluanida, tetriconazol, flumetalina, cresoxim-metílico e tebuconazol da planta medicinal *Hyptis pectinata* foi avaliada.

Os polímeros CuBTC e MIL-53 também foram avaliados quanto a eficiência de extração dos pesticidas estudados na planta medicinal *Hyptis pectinata*. O CuBTC também conhecido como HKUST-1 é formado pela interação eletrostática entre o ligante BTC (= benzeno-1,3,5-tricarboxilato) com o cobre (II), sendo este das classes dos MOF (Metal-Organic Framework) o mais estudado, quanto a sua capacidade de adsorção. Chmelik e colaboradores (2009) avaliaram a capacidade de adsorção bem como a difusão de alcanos em cristais de CuBTC usando microscopia de infravermelho e simulações moleculares.

O MIL-53 (MIL= material from Institut Lavoisier) com fórmula química  $M(OH)(O_2C-C_6H_4-CO_2)$ , assim como os demais polímeros citados, possui capacidade de adsorção de compostos químicos. Bourrelly e colaboradores (2005) avaliaram os diferentes comportamentos de adsorção de metano e dióxido de carbono nos materiais MIL-53 e MIL-47. A Figura 3 mostra as estruturas dos polímeros: (A) CuBTC, (B)  $[Zn(BDC)(H_2O)_2]_n$  e (C) MIL-53.



**Figura 3:** Estrutura dos polímeros utilizados. (A) CuBTC, (B)  $[\text{Zn}(\text{BDC})(\text{H}_2\text{O})_2]_n$  e (C) MIL-53.

## 2.9. Cromatografia a gás acoplada à espectrometria de massas (CG/EM)

A cromatografia gasosa é uma técnica de separação muito utilizada para a análise de compostos voláteis e termicamente estáveis. Esta técnica consiste basicamente em uma fase estacionária (no estado líquido ou sólido) e uma fase móvel (no estado gasoso), em que a separação ocorre pelo processo de difusão entre os analíticos na fase móvel e a fase estacionária (COLLINS *et al.*, 2006).

A fase estacionária fica impregnada em um tubo longo, sendo que o material da coluna não pode interagir com o recheio (fase estacionária), nem com as substâncias presentes na amostra (COLLINS *et al.*, 2006). Nos casos em que a fase é um sólido, a separação baseia-se na adsorção física e química, o que constitui uma limitação do método, pois a adsorção dos compostos pode ser irreversível, ou produzir picos com cauda, dentre outros problemas. Quando a fase estacionária é um líquido, ocorre a solubilização das substâncias presentes na amostra de maneira seletiva, para que as mesmas não eluam da coluna sem a devida separação. Neste caso, a separação baseia-se nas diferentes solubilidades das substâncias na fase estacionária e em suas diferentes volatilidades (PIZZUTTI *et al.*, 1996).

Em análises cromatográficas, os analitos dissolvidos em um solvente adequado são volatilizados no injetor do cromatógrafo, sendo em seguida arrastados pelo gás de arraste para a coluna, onde ocorre o processo de separação. O modo de injeção da amostra pode ser programado de acordo com a concentração dos compostos na amostra. O modo de injeção denominado como *split* (vaporização com divisão de fluxo) é muito utilizado para amostras em que a concentração dos compostos são elevadas. Já o modo de injeção *splitless* (vaporização sem divisão de fluxo) é utilizado para amostra em que a presença do analito está em nível de traços. Após a injeção, os analitos em fase gasosa passam para a coluna, em seguida para a interface e após são inseridos no detector.

Um dos detectores mais utilizados para a cromatografia gasosa é o espectrômetro de massas. Pois, o CG/EM combina a vantagem da alta seletividade e uma boa eficiência na separação, com a obtenção da informação estrutural da molécula através do espectro de massas, bem como sua massa molar (CHIARADIA *et al.*, 2008; SILVERSTEIN *et al.*, 2007). A separação e detecção por CG/EM foi possível devido à estabilidade térmica e as pressões de vapor adequadas dos princípios ativos selecionados neste trabalho (ver item 2.2).

A técnica CG/EM possui dois modos de ionização, a ionização química (IQ) e a por ionização por elétrons (IE). Na ionização química ocorre principalmente à produção do íon molecular. Nesta técnica as moléculas dos analitos em fase

gasosa são introduzidas em uma câmara contendo excesso de um gás reagente e são bombardeados por elétrons; neste momento ocorrem reações entre os íons do gás reagente e as moléculas neutras dos analitos originando íons pseudos moleculares. Na ionização por elétrons, os analitos em fase gasosa são bombardeados por elétrons de energia elevada. Durante o bombardeamento as moléculas dos analitos ocorrem vários processos, dentre eles a ionização pela remoção de um elétron (CHIARADIA *et al.*, 2008; BARCELÓ *et al* 1997). A técnica de ionização por elétrons é a mais usada para a geração de íons, pois a energia fornecida é o suficiente para quebrar as ligações químicas das moléculas da amostra, mas não suficientemente energética para decompor-las em seus átomos constituintes (SILVESTEIN *et al.*, 2007; SKOOG, 2002).

O analisador de massas pode ser operado no modo varredura linear (SCAN). Este modo é muito utilizado para fazer o reconhecimento da composição da amostra. O modo monitoramento de íons selecionados (SIM), pode ser utilizado após a obtenção do tempo de retenção e realizada a seleção dos íons mais representativo do analito alvo. Este modo é o mais indicado para a quantificação de um determinado composto presente na amostra.

A cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas, em suma, representa o mais relevante conjunto de técnicas analíticas disponíveis atualmente para análise de substâncias químicas, devido aos baixos limites de detecção (MAFFEI *et al.*, 2009). Em vista disto, a CG/EM tem sido muito utilizada para a determinação de diferentes contaminantes tais como: resíduos de pesticidas, toxinas produzidas por microorganismos, compostos tóxicos produzidos durante a produção de alimentos, hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, hidrocarbonetos polialogenados em matrizes diversas (SILVA *et al.*, 2010). A Figura 4 mostra um cromatógrafo a gás acoplado ao espectrômetro de massas da Shimadzu.



**Figura 4:** Cromatógrafo a gás acoplado ao espectrômetro de massas modelo QP2010 Plus da Shimadzu.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1. GERAL**

Desenvolver um método analítico para determinação de resíduos de pesticidas na planta medicinal *Hyptis pectinata* (L.) Poit (Sambacaitá), utilizando as técnicas de dispersão da matriz em fase sólida (DMFS) e cromatografia a gás acoplada à espectrometria de massas (CG/EM).

#### **3.2. ESPECÍFICOS**

- ✓ Selecionar os pesticidas;
- ✓ Otimizar as condições cromatográficas para a determinação simultânea dos pesticidas;
- ✓ Desenvolver o método por DMFS, utilizando sorventes convencionais;
- ✓ Avaliar a eficiência dos polímeros de coordenação CuBTC, MIL-53 e  $[Zn(BDC)(H_2O)_2]_n$  na extração dos pesticidas;
- ✓ Validar o método desenvolvido utilizando a melhor combinação sorvente/solvente;
- ✓ Aplicar o método desenvolvido em amostras reais.

## 4. PARTE EXPERIMENTAL

### 4.1. Materiais

Béquer (100 mL), balão volumétrico (1; 5; 10 e 25 mL), proveta (10 a 25 mL), vial (1; 5; 10 e 50 mL), balão de fundo redondo (50 mL), seringa de polietileno (20 mL), pipeta Pasteur, micropipetas de volumes variados 0,5-10  $\mu$ L, 10-100  $\mu$ L e 100-1000  $\mu$ L (Jencons, modelo Sealpette), lã de vidro, vidro de relógio, bastão de vidro, espátula, pinça, cadiño, pistilo.

#### 4.1.1. Limpeza das vidrarias

Procedimento de limpeza das vidrarias utilizadas nas extrações e preparações de soluções.

- Enxaguar em água corrente por três vezes;
- Deixar a vidraria em solução de detergente Extran a 2% por 24 horas;
- Enxaguar em água corrente, por três vezes;
- Enxaguar com água destilada;
- Enxaguar com acetona;
- Secar ao ar as vidrarias graduadas e as não graduadas secar em estufa.

### 4.2. Reagentes e padrões de pesticidas

Foram utilizados padrões certificados dos pesticidas pirimetanil, ametrina, diclofluanida, tetriconazol, flumetralina, cresoxim-metílico e tebuconazol (AccuStandard, CT, EUA) com pureza superior a 95%.

Diclorometano, acetato de etila e *n*-hexano grau HPLC foram adquiridos da Tedia (Fairfield, OH, EUA). Sulfato de sódio anidro (Mallinckrodt Baker, KY, EUA),

sílica-gel 60 (70–230 mesh; Merck, Darmstadt, Alemanha), alumina neutra (Macherey-Nagel, Alemanha), C<sub>18</sub> (50 µm; Phenomenex, CA, EUA).

#### **4.3. Obtenção dos polímeros de coordenação [Zn(BDC)(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>]<sub>n</sub>**

O polímero de coordenação [Zn(BDC)(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>]<sub>n</sub> foi obtido a partir da síntese hidrotermal. Os polímeros MIL-53 e CuBTC são comerciais e foram gentilmente fornecidos pelo Prof. Severino Alves Júnior de departamento de Química da Universidade Federal de Pernambuco.

Os dados de preparação e caracterização do polímero [Zn(BDC)(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>]<sub>n</sub> estão descritos em Wanderley, 2010.

#### **4.4. Preparação das soluções padrão**

As soluções padrão estoque dos pesticidas na concentração de 100,0 µg mL<sup>-1</sup> foram preparadas individualmente em diclorometano e armazenadas em freezer -17°C (as soluções padrão foram utilizadas durante 1 mês). A partir da diluição das soluções padrão estoque foram preparadas as soluções intermediárias na concentração de 50,0 µg mL<sup>-1</sup>. Das soluções intermediária foram preparadas as soluções de trabalho com concentrações entre 0,025-10,0 µg mL<sup>-1</sup> em diclorometano, as quais foram utilizadas para a fortificação da matriz e na obtenção das curvas analíticas.

#### **4.5. Aquisição, preparação da amostras de *Hyptis pectinata***

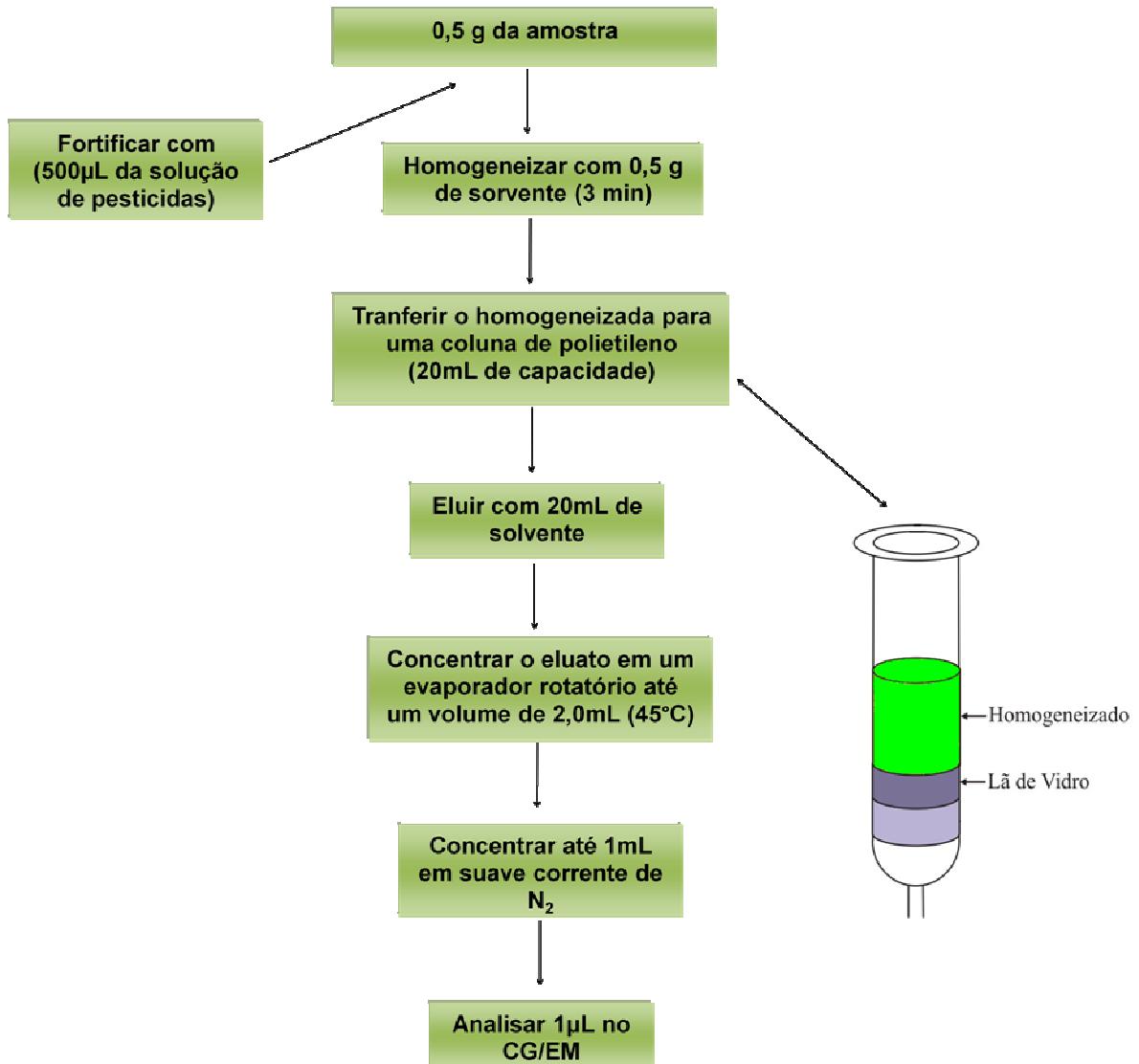
As amostras desidratadas de *Hyptis pectinata* foram adquiridas no Mercado Municipal de Aracaju/SE. Em seguida, foram encaminhadas ao laboratório e armazenadas em saco plástico. No laboratório as amostras de folhas e caule foram trituradas utilizando um processador. O homogeneizado foi armazenado em frasco com tampa rosqueável. Todas as amostras foram mantidas sob refrigeração.

#### **4.6. Ensaios de recuperação**

Nos ensaios de recuperação, 0,5 g de *Hyptis pectinata* foi fortificada com 500 µL da solução de trabalho, resultando nas concentrações de 0,05; 0,1; 0,5; e 1,0 µg g<sup>-1</sup>. As amostras fortificadas foram mantidas em repouso por 30 min (quatro replicatas foram analisadas para cada nível de fortificação).

#### **4.7. Procedimento de extração por DMFS**

Uma alíquota de 0,5 g de *Hyptis pectinata* foi pesada e homogeneizada com 0,5 g do sorvente durante 3 min. Em seguida, o homogeneizado foi transferido para uma coluna DMFS constituída por uma seringa de polietileno com 20,0 mL de capacidade, contendo lã de vidro (como base de sustentação). A eluição foi realizada sob vácuo com 20,0 mL de solvente. O eluato foi concentrado a aproximadamente 2,0 mL em um evaporador rotatório (45 °C). Em seguida, a 1,0 mL com suave corrente de nitrogênio. Uma alíquota de 1µL foi analisada por CG/EM. A Figura 5 mostra as etapas do procedimento de extração baseado na técnica DMFS.



**Figura 5:** Fluxograma do método desenvolvido.

#### 4.8. Equipamento e condições cromatográficas de análise

As análises cromatográficas foram realizadas em um cromatógrafo a gás, marca Shimadzu (Quioto, Japão), modelo QP2010Plus, injetor automático AOC-20i, coluna capilar DB-5MS (5% fenil-95% polidimetilsiloxano; 30 m x 0,25 mm (diâmetro interno), 0,25 μm; J&W Scientific, CA, EUA). As condições cromatográficas foram: temperatura do injetor (250 °C), interface (280 °C). O gás de arraste foi hélio (99,995%) com vazão na coluna de 1,2 mL min<sup>-1</sup>. O injetor *split/splitless* foi utilizado no modo sem divisão de fluxo (*splitless*) e programação de temperatura do forno:

60 °C com taxa de aquecimento de 10 °C min <sup>-1</sup> até 290 °C (3 min). O tempo total de análise cromatográfica foi de 27 min. O volume de injeção das soluções padrão e dos extratos foi de 1,0 µL. O espectrômetro de massas foi operado no modo SIM (monitoramento de íons selecionados) com ionização por elétrons a 70 eV.

#### **4.9. Validação do método analítico desenvolvido**

O desenvolvimento ou adaptação de um método analítico envolve o processo de avaliação denominado de validação, a qual é imprescindível para garantir a confiabilidade dos resultados obtidos, pois dados analíticos não confiáveis podem conduzir a decisões equivocadas e a prejuízos financeiros (IMOTO, 2004; RIBANI *et al.*, 2004). Nos parâmetros de validação estão envolvidos:

✓ *Seletividade*

A seletividade avalia o nível de interferência que ocorre durante a análise de uma amostra hipotética, pois a matriz utilizada pode conter compostos que interferem nas medições do detector. Sendo estes considerados como: impurezas, produtos de degradação ou compostos que possuem propriedades físico-químicas análogo ao analito de interesse. Portanto, a avaliação da seletividade é realizada comparando o extrato da matriz fortificado com a amostra controle da matriz (branco) (BRITO *et al.*, 2003; LINDHOLM *et al.*, 2004).

✓ *Linearidade*

A linearidade é a habilidade do método em produzir resultados diretamente proporcionais à concentração do analito na amostra em estudo. A linearidade do método é avaliada a partir da construção das curvas analíticas. As análises por regressão linear dos pontos resultam em equações para cada analito estudado. Sendo a equação geral  $y=ax+b$ , onde  $y$  corresponde à resposta instrumental (área),

$a$  o coeficiente angular,  $x$  a concentração e  $b$  o coeficiente linear. A linearidade é avaliada pelo coeficiente de correlação linear ( $r$ ) ou pelo coeficiente de determinação ( $r^2$ ) (RIBEIRO *et al.*, 2008).

✓ *Exatidão*

O INMETRO define exatidão, como o grau de aproximação entre o valor obtido e o valor real. Sendo que, a avaliação entre o valor real e o obtido poder ser avaliado por diferentes processos, como a utilização de um material de referência certificado; comparação entre métodos analíticos (avalia o grau de proximidade dos valores obtidos entre os dois métodos), adição de padrão e o processo mais utilizado o estudo de recuperação. Os ensaios de recuperação consistem basicamente da fortificação de amostras com uma solução de concentração conhecida, seguida do processo de extração. Por fim, calcula-se a quantidade percentual recuperada (ABREU *et al.*, 2008; MORACCI, 2008).

✓ *Precisão*

A precisão está relacionada com o coeficiente de variação (CV) ou desvio padrão relativo (DPR), que corresponde à razão entre o desvio e a média dos dados experimentais, sendo que os valores de coeficientes aceitos para a análise de pesticidas é de até 30%. A precisão do método desenvolvido é avaliada mediante extrações realizadas em replicata (MAFFEI *et al.*, 2009; BRITO *et al.*, 2003; RIBANI *et al.*, 2004).

✓ *Limite de Detecção instrumental*

O limite de detecção corresponde à menor concentração que o instrumento consegue detectar, mas não necessariamente quantificar. O limite de detecção pode ser estabelecido pela relação sinal ruído, parâmetros da curva analítica e pelo método visual (RIBANI *et al.*, 2004).

✓ *Limite de Quantificação*

O limite de quantificação é a concentração que o analito poder ser quantificado com exatidão e confiabilidade, utilizando um determinado procedimento experimental. Os mesmos critérios utilizados para o cálculo do limite de detecção podem ser usados para obtenção do limite de quantificação, além de poder ser estabelecido como a menor concentração estudada (MAFFEI *et al.*, 2009; BRITO *et al.*, 2003)

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para o desenvolvimento do método analítico por DMFS e CG/EM foram inicialmente otimizadas as condições cromatográficas para análise simultânea dos pesticidas selecionados, seguido dos experimentos realizados em bancada para a seleção do sorvente de extração, solvente de eluição, proporção matriz/sorvente, seleção do sorvente auxiliar, escolha do solvente de lavagem e a avaliação da eficiência dos polímeros  $[Zn(BDC)(H_2O)_2]_n$ , CuBTC e MIL-53 na extração dos pesticidas estudados.

### 5.1. Otimização das condições cromatográficas de análise

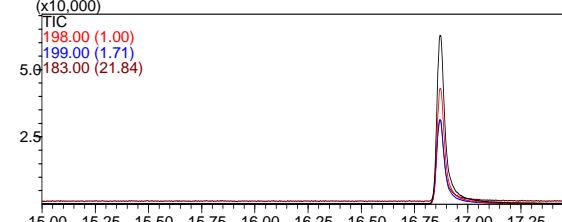
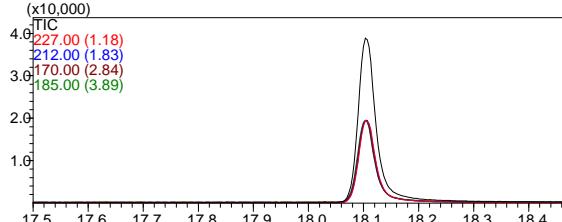
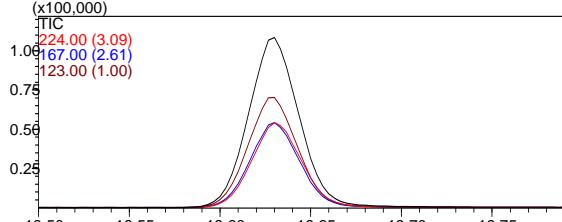
Os tempos de retenção e a seleção dos fragmentos mais representativos (mais intensos) de pirimetanil, ametrina, diclofluanida, tetriconazol, flumetralina, cresoxim-metílico e tebuconazol foram obtidos com o auxílio de soluções padrão individuais dos pesticidas em diclorometano na concentração de  $5,0 \mu\text{g mL}^{-1}$ , que foram injetadas operando o CG/EM no modo varredura linear (SCAN), após a otimização das condições de temperatura do forno e o fluxo do gás de arraste. Os parâmetros de tempo de retenção e fragmentos ( $m/z$ ) obtidos no modo SCAN foram usados no modo monitoramento de íons selecionados (SIM) para a quantificação dos pesticidas em *Hyptis pectinata*. A Tabela 5 mostra os tempos de retenção e as razões  $m/z$  mais representativas para os princípios ativos.

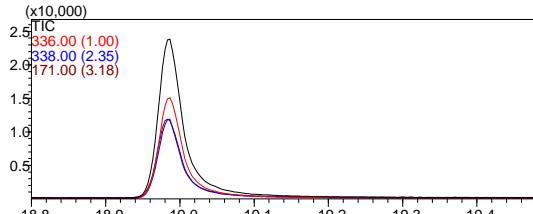
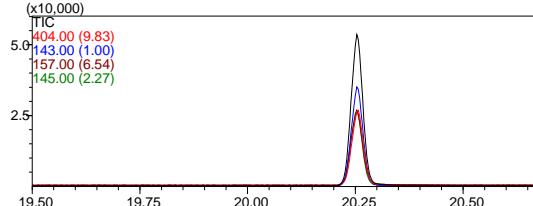
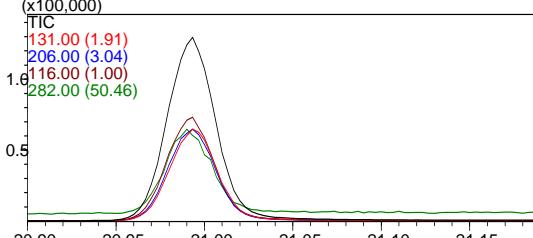
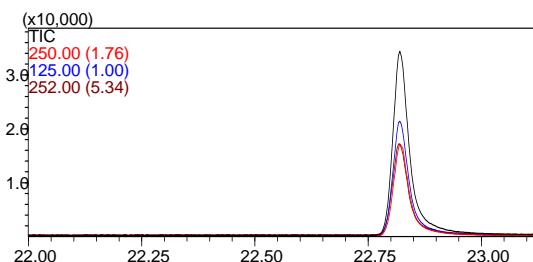
## 5.2. Efeito matriz

O efeito matriz ocorre quando os analitos são injetados juntamente com os componentes da matriz (extratos), podendo ocasionar uma resposta superior ou inferior em comparação com as respostas de um padrão livre de componentes da matriz. Este efeito pode ser avaliado a partir da comparação do coeficiente angular da curva analítica preparada no solvente com o coeficiente angular da curva preparado no extrato da matriz. Em comparações entre duas curvas analíticas (extrato da matriz/ solvente), quando somente o coeficiente angular varia os componentes da matriz contribuem para introduzir nos resultados um erro sistemáticos proporcional. Quando apenas o coeficiente linear apresenta variação, significa que existe um erro sistemático constante (PINHO *et al.*, 2010).

Neste trabalho foi verificada uma variação entre os valores de coeficientes angulares e lineares para todos pesticidas. Sendo assim, foram calculadas as razões (coeficientes angulares matriz/solvente) para cada pesticida. Os valores obtidos foram maiores do que 1,3, evidenciando um efeito matriz significativo; pois, quando a razão obtida for superior a 1,0 o efeito de matriz é positivo, enquanto que valores inferiores a 1,0 indicam efeito de matriz negativo (PINHO *et al.*, 2010; RISSATO *et al.*, 2006). Portanto, a quantificação dos pesticidas foi realizada utilizando a curva preparada no extrato da matriz (CHEN *et al.*, 2011). A Tabela 6 mostra os valores dos coeficientes angulares e lineares e os de correlação. Na Tabela 7 estão descritas as razões entre os coeficientes angulares.

**Tabela 6:** Condições cromatográficas de análise no modo monitoramento de íons selecionado SIM

Pesticida	Tempo de retenção (min)	Íons monitorados ( <i>m/z</i> )	Intervalo de tempo (min)	Janela de aquisição	Cromatograma
Pirimetanil	16,9	198,199,183	15,0-17,5	(x10,000) TIC 198.00 (1.00) 199.00 (1.71) 183.00 (21.84)	
Ametrina	18,1	227,212,170, 185	17,5-18,5	(x10,000) TIC 227.00 (1.18) 212.00 (1.83) 170.00 (2.84) 185.00 (3.89)	
Diclofluanida	18,6	224,167,123	18,5-18,8	(x100,000) TIC 224.00 (3.09) 167.00 (2.61) 123.00 (1.00)	

<b>Tetraconazol</b>	18,9	336,338,171	18,8-19,5	 <p>(x10,000) TIC 336.00 (1.00) 338.00 (2.35) 171.00 (3.18)</p>
<b>Flumetalina</b>	20,2	404,143,157,145	19,5-20,7	 <p>(x10,000) TIC 404.00 (9.83) 143.00 (1.00) 157.00 (6.54) 145.00 (2.27)</p>
<b>Cresoxim-metílico</b>	20,9	131,206,116,282	20,9-21,2	 <p>(x100,000) TIC 131.00 (1.91) 206.00 (3.04) 116.00 (1.00) 282.00 (50.46)</p>
<b>Tebuconazol</b>	22,8	250,125,252	22,0-23,2	 <p>(x10,000) TIC 250.00 (1.76) 125.00 (1.00) 252.00 (5.34)</p>

**Tabela 7:** Dados de calibração no extrato da matriz e no solvente.

Pesticida	Extrato da matriz		Solvente	
	Equação da reta	$r^2*$	Equação da reta	$r^2*$
Pirimetanil	$y=31726X + 1321$	0,9992	$y=23234X -2763$	0,9947
Ametrina	$y=8935X + 803$	0,9989	$y=6023X - 852$	0,9944
Diclofluanida	$y=24948X - 740$	0,9998	$y=18771X - 5580$	0,9910
Tetraconazol	$y=10606X + 859$	0,9987	$y=7009X - 742$	0,9956
Flumetalina	$y=12145X - 402$	0,9998	$y=7593X - 701$	0,9963
cresoxim-metílico	$y=23917X + 1472$	0,9992	$y=16308X - 623$	0,9983
Tebuconazol	$y=11574X + 830$	0,9990	$y=7665X - 436$	0,9945

\* coeficiente de determinação

**Tabela 8:** Valores das razões dos coeficientes angulares (extrato da matriz/solvente).

Pesticida	Razão de coeficientes angulares
Pirimetanil	1,4
Ametrina	1,5
Diclofluanida	1,3
Tetraconazol	1,5
Flumetalina	1,6
Cresoxim-metílico	1,5
Tebuconazol	1,5

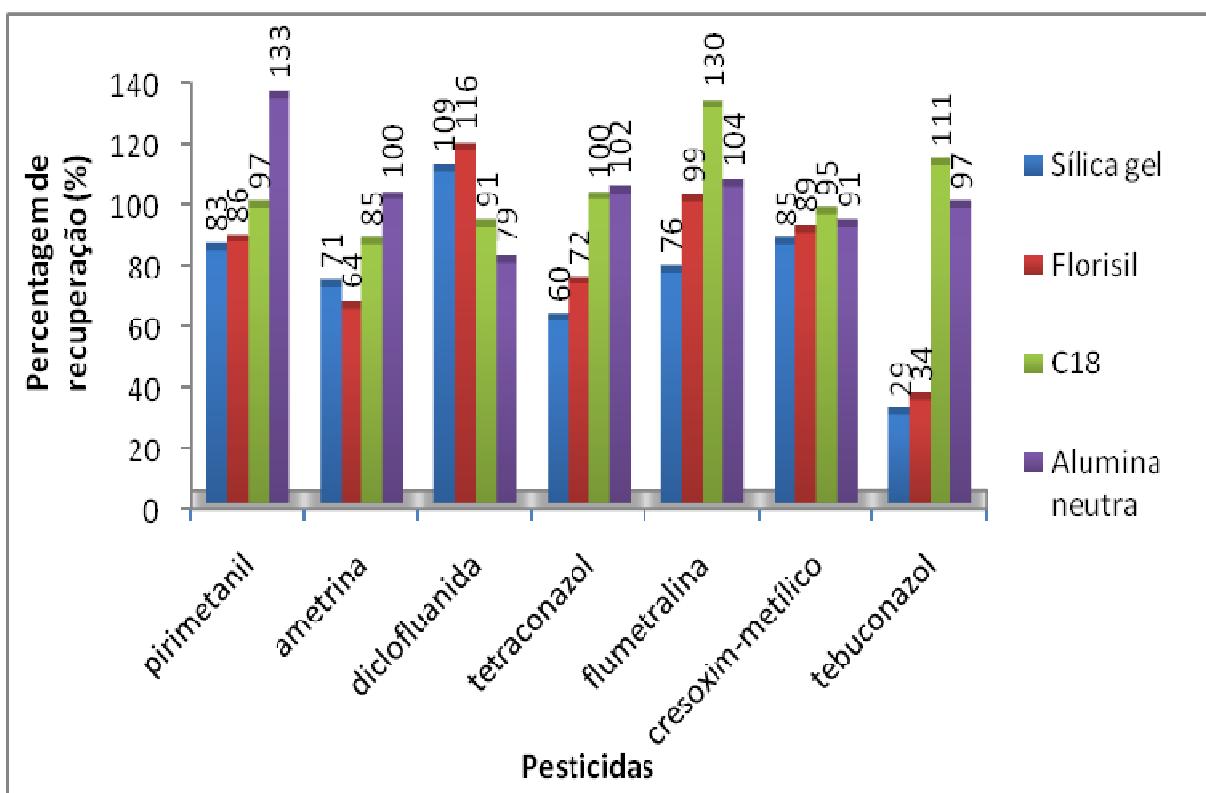
### **5.3. Desenvolvimento do método**

Os métodos analíticos usados para determinação de resíduos de pesticidas são divididos em individuais (determinação de um único princípio ativo) e multirresíduo (determinação de vários princípios ativos) (JARDIM *et al.*, 2009). Em métodos analíticos com pesticidas de classes químicas diferentes, há a influência de vários fatores que estão relacionados aos analitos, tais como: polaridade e solubilidade. Estes fatores contribuem diretamente na seleção da combinação sorvente/solvente para a extração simultânea de pesticidas por DMFS (HU *et al.*, 2005).

### **5.4. Desenvolvimento do método por DMFS**

Na técnica DMFS, a seleção do sistema sorvente/solvente mais adequado está diretamente relacionada à polaridade e a solubilidade do analito, bem como a natureza da matriz, de modo que o isolamento dos analitos mais polares é realizado com agentes dispersantes polares e os menos polares com os sorventes menos polares ou apolares (GARCÍA-LOPES *et al.*, 2008; MAFFEI *et al.*, 2009).

Desta forma, preliminarmente, foram realizados testes de eficiência de extração dos pesticidas da matriz com sorventes de fase normal ou polares, tais como: sílica gel, Florisil® (silicato de magnésio) e alumina neutra; e, de fase reversa (apolar) como C<sub>18</sub>, utilizando diclorometano. O DCM foi selecionado para a seleção dos sorventes em decorrência da boa solubilidade dos pesticidas neste solvente (Ver item 2.2). Os valores de recuperação nos extratos foram calculados a partir da solução de comparação com concentração de 1,0 µg g<sup>-1</sup>. A Figura 6 mostra os valores percentuais de recuperação obtidos com os diferentes sistemas sorvente/solvente do procedimento DMFS.



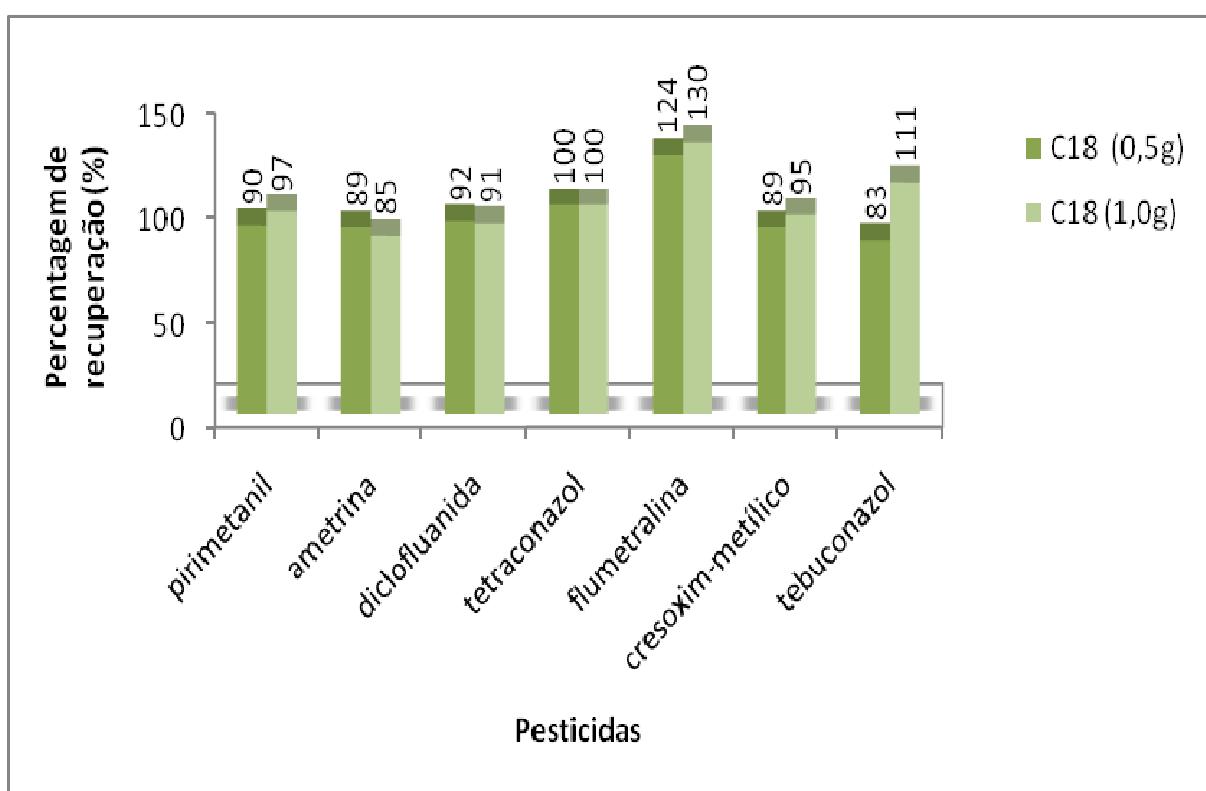
**Figura 6:** Avaliação da eficiência de extração dos sorventes utilizando a técnica DMFS.

Os valores médios percentuais de recuperação obtido com sílica gel e Florisil®, considerando eluição com diclorometano e nível de fortificação  $1,0 \mu\text{g g}^{-1}$ , foram abaixo do intervalo estabelecido pela literatura de 70-130%, para determinação de resíduos de pesticidas em matrizes ambientais e alimentares (EPA., 2010; MAFFEI *et al.*, 2004), para tetraconazol (60%, sorvente sílica), tebuconazol (29 e 34% para sílica gel e Florisil®, respectivamente) e ametrina (64%, sorvente Florisil®). A alumina neutra proporcionou valores percentuais de recuperação entre 79-133%, sendo o mais eficiente dentre os sorventes de fase normal avaliados. Carvalho e colaboradores (2009) utilizaram alumina como agente dispersante para a extração de pesticidas na planta medicinal *Cordia salicifolia*, usando uma mistura de ciclohexano/diclorometano (1:3, v/v) como solvente de eluição, obtendo recuperações entre 62 a 129%.

No estudo de recuperação com C<sub>18</sub>, os valores percentuais de recuperação foram entre 83-130%, os quais estão acima dos valores obtidos com alumina neutra, sendo, portanto, um sorvente mais eficiente para extração de pirimetanil, ametrina,

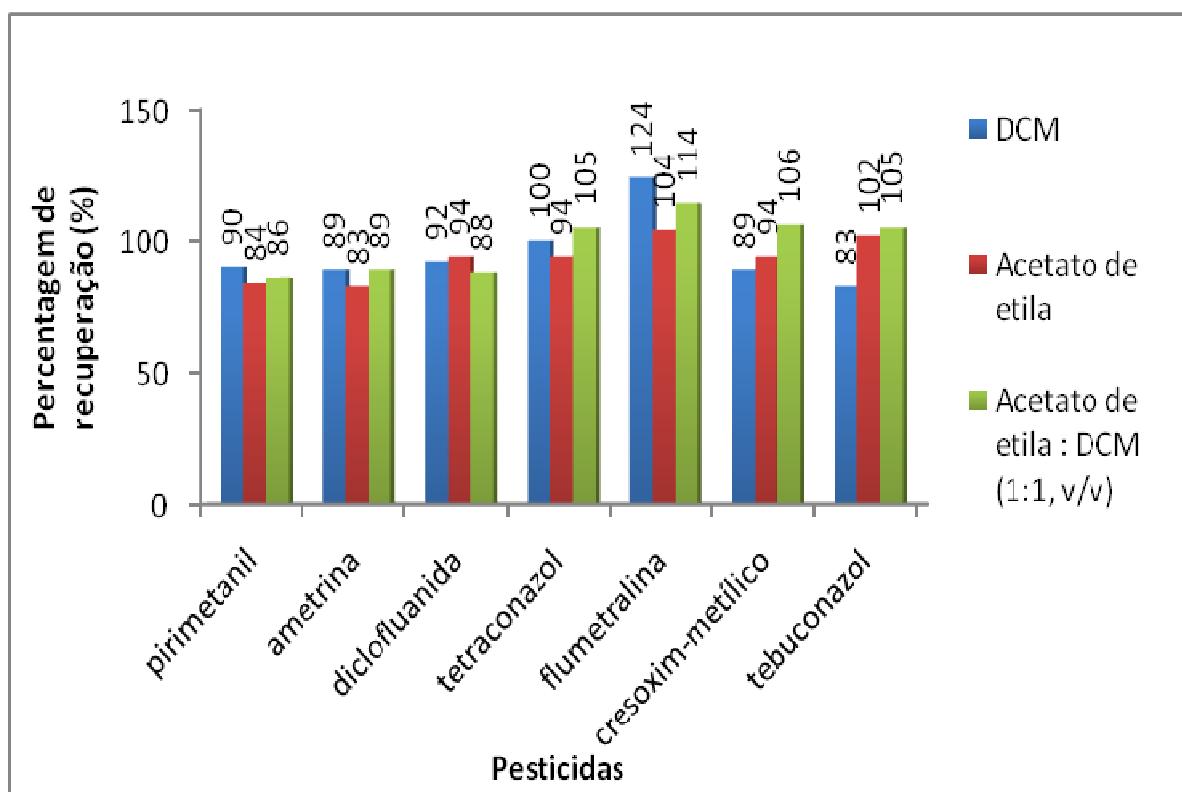
diclofluanida, tetriconazol, flumetalina, cresoxim-metílico e tebuconazol na planta medicinal *Hyptis pectinata*.

Fatores como a massa da amostra e do sorvente, segundo Maffei e colaboradores, 2009, podem afetar os resultados de recuperação, assim como a polaridade do solvente (CAPRIOTTI *et al.*, 2010; GARCÍA-LÓPEZ *et al.*, 2008). A influência da massa na recuperação dos pesticidas foi avaliada a partir dos testes de recuperação utilizando massas de 0,5 e 1,0 g do sorvente, para o nível de fortificação de  $1,0 \mu\text{g g}^{-1}$  e  $n=2$ . A Figura 7 mostra os valores percentuais de recuperação para 0,5 e 1,0 g de C<sub>18</sub>. Dentre as quantidades de sorvente avaliadas não houve uma variação considerável nos valores de recuperação. Desta forma, optou-se por utilizar a menor massa (0,5 g de C<sub>18</sub> + 0,5 g de *Hyptis pectinata*) nos ensaios posteriores de recuperação, bem como na validação do método, com intuito de diminuir o custo. ZUIN e colaboradores (2007) utilizaram 0,5 g de Florisil® e 1,0 g de folhas de *Passiflora L.* para a extração de pesticidas organoclorados e organofosforados.



**Figura 7:** Influência da massa do sorvente nos valores médios percentuais de recuperação.

A influência da polaridade do solvente na extração dos pesticidas foi avaliada, utilizando 0,5 g de C<sub>18</sub>, 0,5 g de *Hyptis pectinata* e volume de 20,0 mL dos solventes: diclorometano (polaridade 3,1), diclorometano: acetato de etila (1:1, v/v) e acetato de etila (polaridade 4,4). Como a polaridade em misturas, como diclorometano:acetato de etila (1:1, v/v) não são tabelados, esta pode ser calculada pela equação (P=porcentagem solvente 1 x polaridade solvente 1 + porcentagem solvente 2 x polaridade solvente 2) (NETO *et al.*, 2003)  $P_{\text{diclorometano/acetato de etila}} = (0,5 \times 3,1) + (0,5 \times 4,4) = 3,8$ . Os resultados demonstraram que os solventes testados não influenciaram nos valores de recuperação. Este evento ocorreu em consequência dos valores de polaridade próximos entre os solventes avaliados. Desta forma, foi escolhido 20,0 mL de diclorometano como solvente de eluição por apresentar melhores valores de recuperação (83-124%) em relação aos demais solventes. A Figura 8 mostra os valores percentuais de recuperação para os solventes e mistura de solventes para 0,5 g de *Hyptis pectinata* + 0,5 g de C<sub>18</sub> com n=2.



**Figura 8:** Influência do solvente de eluição na recuperação usando C<sub>18</sub> no procedimento DMFS.

## 5.5. Limpeza do extrato da planta

Durante a extração de pesticidas por DMFS, uma etapa adicional pode ser acrescida para a remoção satisfatória dos compostos interferentes da matriz. Comumente são empregados sorventes auxiliares como sílica gel, C<sub>18</sub>, carvão ativado, alumina, Florisil®, C<sub>8</sub> dentre outros (a depender das características dos interferentes). Esta etapa representa uma alternativa mais recomendada para redução do efeito matriz. No entanto, a limpeza do extrato pode causar a perda de alguns analitos, bem como aumentar o custo da análise. Em alguns casos, a limpeza inadequada pode conduzir a efeitos adversos relacionados à qualidade dos dados gerados, tais como co-eluição de componentes da matriz com o analito de interesse, ocorrência de picos falsos, quantificação incorreta, bem como a uma baixa recuperação dos analitos (PINHO *et al.*, 2009; GARCÍA-LOPES *et al.*, 2008; RISSATO *et al.*, 2006; PINHO *et al.*, 2010).

Para a remoção de pigmentos e da clorofila dos extratos obtidos com a combinação C<sub>18</sub> (0,5g) /diclorometano (20,0 mL), foram realizados testes utilizando ENVI-Carb (carbono grafitizado) (o ENVI-Carb possui uma forte afinidade a moléculas planares, e pode isolar ou remove os pigmentos em alimentos e em produtos naturais) e carvão ativo como sorventes auxiliares. Nos testes realizados foi verificado que houve a remoção da coloração dos extratos empregando ambos os sorventes, porém não houve a remoção significativa dos interferentes da matriz. Para tanto, foram realizados extrações substituindo os sorventes ENVI-Carb e carvão ativo por Florisil®, sílica gel e alumina neutra. Dentre os sorventes auxiliares testados, todos se mostraram ineficientes na retenção dos compostos da matriz.

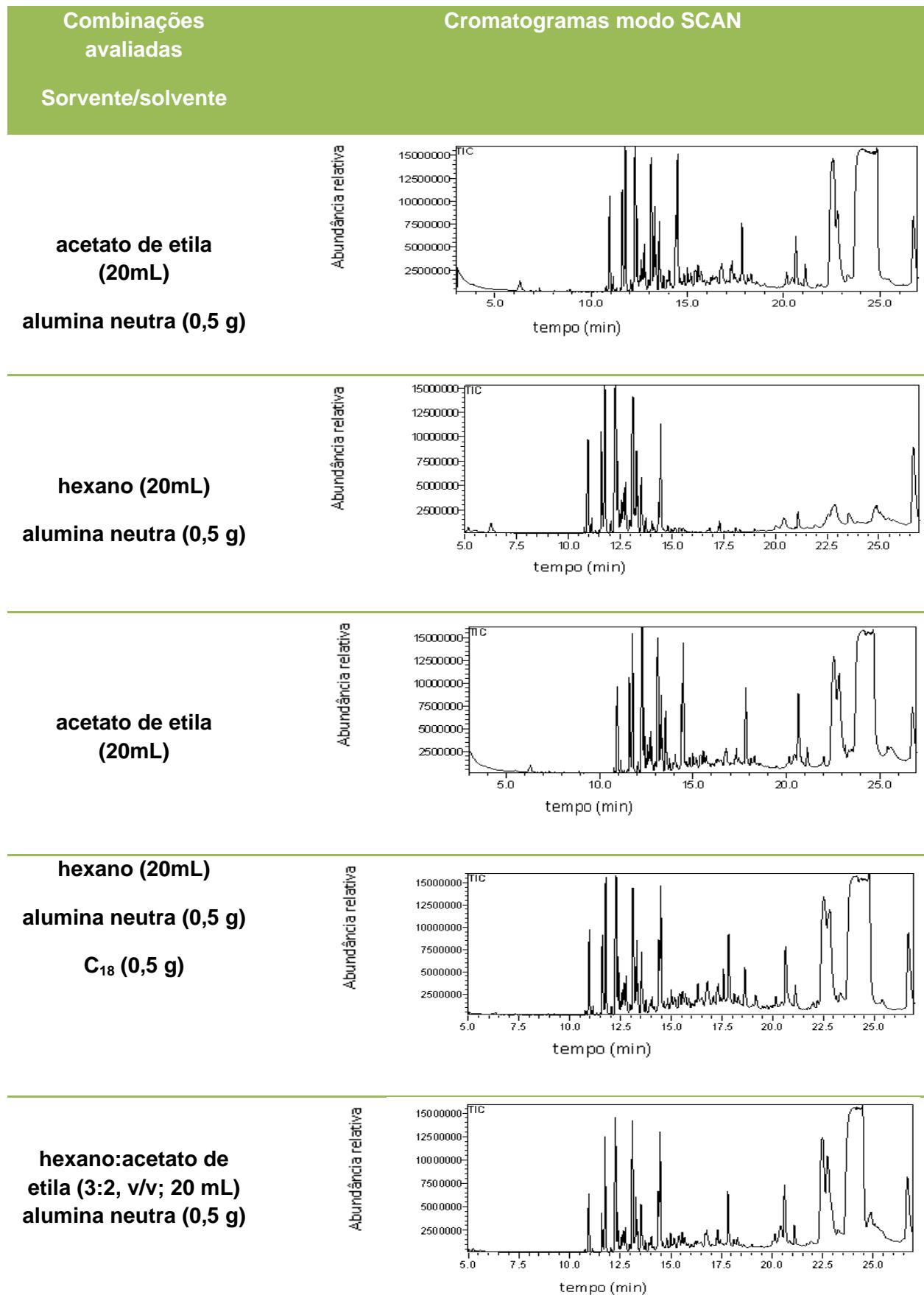
Na dispersão da matriz em fase sólida pode ser utilizado um solvente de lavagem para a obtenção de um extrato mais limpo (menor quantidade de compostos da matriz). É uma etapa empregada antes da eluição do solvente adequado para a extração dos analitos (CAPRIOTTI *et al.*, 2010).

Para a escolha do solvente de lavagem, inicialmente foi realizado a extração sem a utilização do agente dispersivo com 20,0 mL de acetato de etila. Foi verificado que no extrato bruto há a predominância de uma grande quantidade de compostos

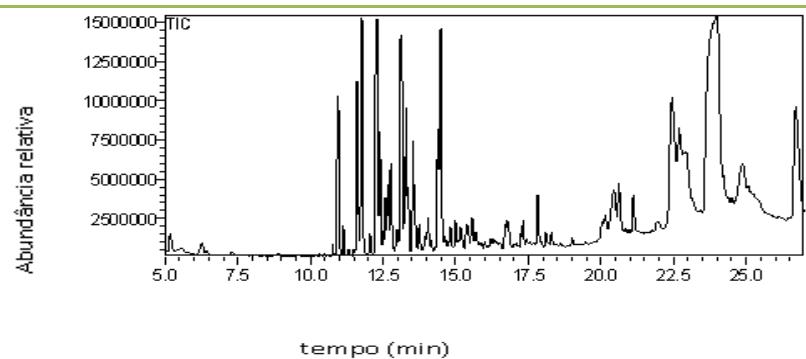
da matriz, que foram identificados após injeção do extrato operando o espectrômetro de massa no modo SCAN. Entre os compostos identificados estão humeleno, o  $\gamma$ -cadineno, compostos que são encontrados no óleo essencial da *Hyptis pectinata* (SANTOS *et al.*, 2008).

Para avaliar a composição do extrato e a quantidade de compostos (picos cromatográficos) após processo de extração, foram realizados testes com variadas combinação, as quais foram: (solvete/ sorvente): hexano/ alumina neutra; hexano:acetato de etila (3:2, v/v; 20,0 mL)/alumina neutra; hexano:diclorometano (3:2, v/v; 20,0 mL)/alumina neutra; hexano:acetato de etila (3:2, v/v; 20,0 mL)/alumina neutra+ C<sub>18</sub> como sorvente auxiliar, diclorometano/alumina neutra e dicloromentano/C<sub>18</sub>. Após a extração, os extratos foram analisados no CG/EM, operando o espectrômetro de massas no modo varredura linear. Das combinações citadas, foi verificado que o uso de hexano como solvente de lavagem proporciona uma diminuição da intensidade dos compostos da matriz. A Tabela 9 ilustra os cromatogramas obtidos no modo SCAN para as diferentes combinações sorvente/solvete.

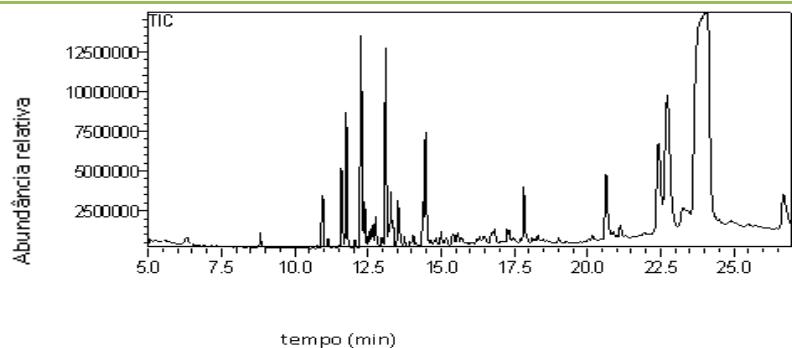
**Tabela 9:** Avaliação da melhor combinação Sorvente/solvente para a obtenção do extrato com menor presença de compostos da matriz.



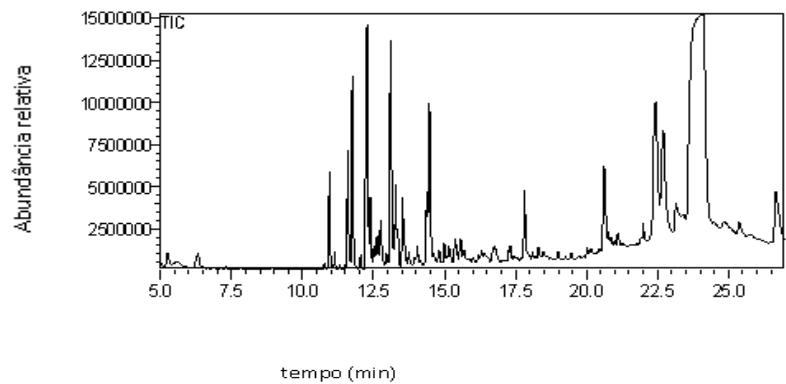
**hexano:diclorometano  
(3:2, v/v; 20 mL)**



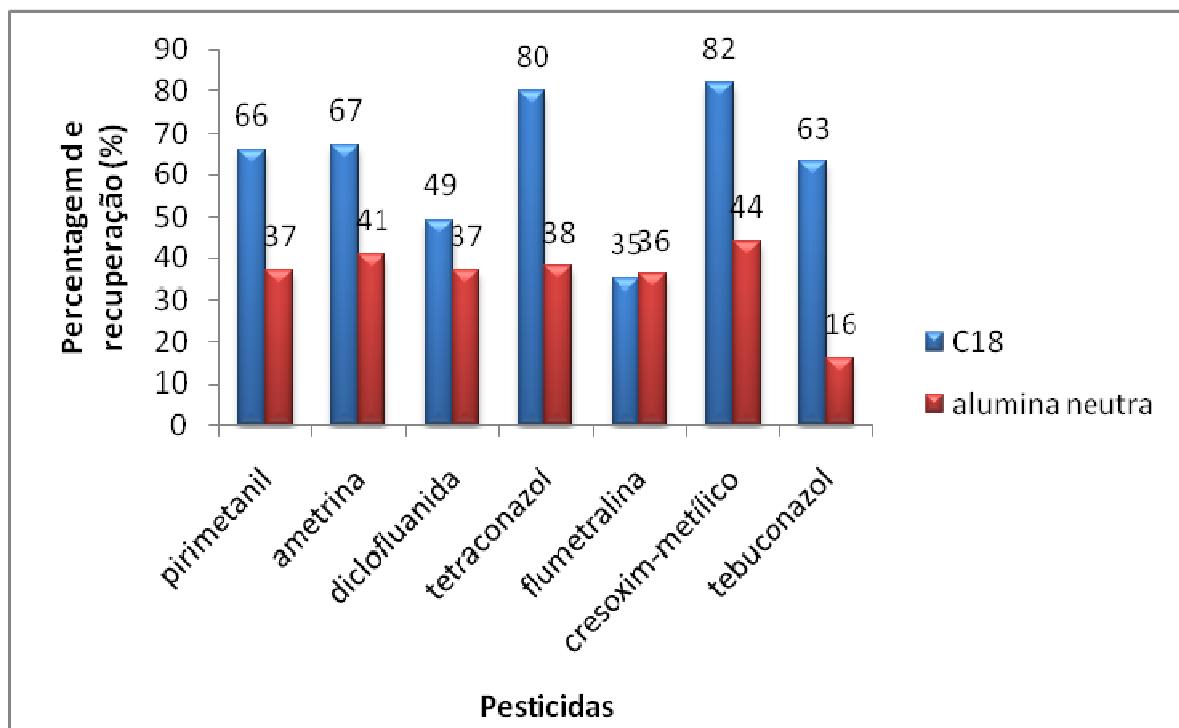
**Hexano (10mL)**  
**C<sub>18</sub> (0,5 g) e eluição  
com diclorometano  
(20mL)**



**hexano (10mL)**  
**alumina neutra (0,5 g)**  
**e eluição com  
diclorometano (20mL)**

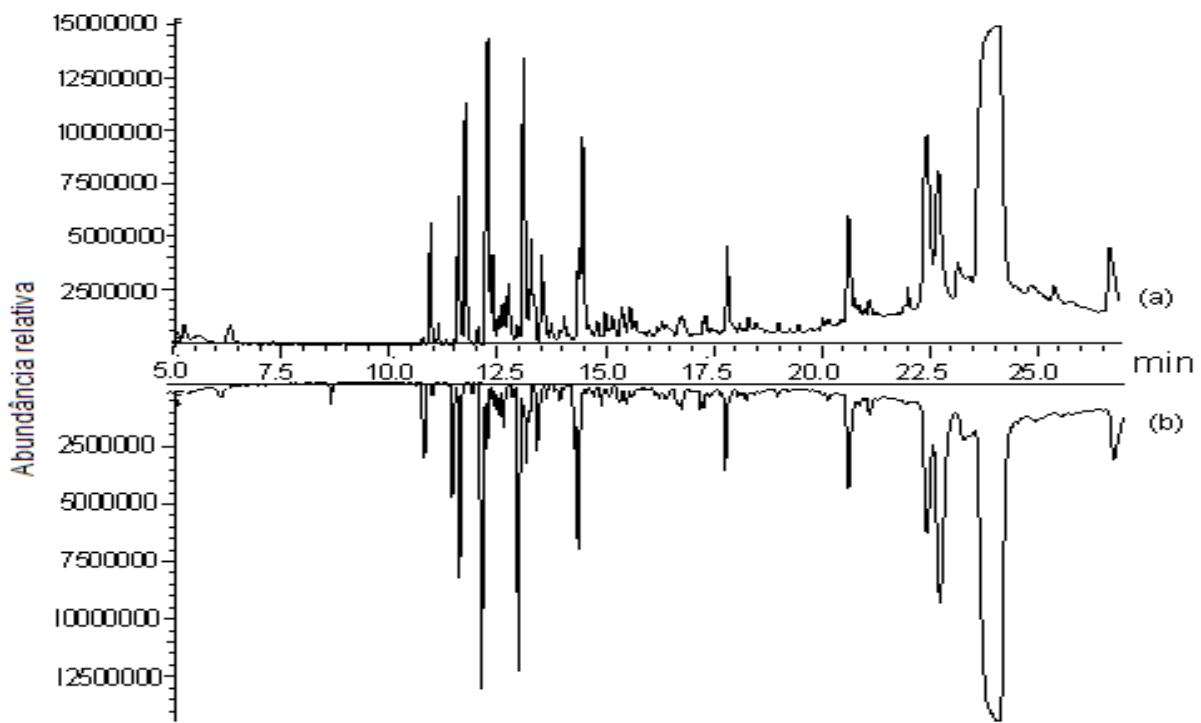


Desta forma, os valores de recuperação foram avaliados após a lavagem com hexano e foi verificado que houve uma diminuição nos valores de recuperação para maioria dos pesticidas estudados. A Figura 9 mostra os valores percentuais de recuperação após lavagem com 10,0 mL de hexano.



**Figura 9:** Eficiência na recuperação após lavagem com hexano.

Dentre os testes realizados, foi verificado que a lavagem com 10,0 mL de hexano antes da eluição com diclorometano no homogeneizado de 0,5 g de C<sub>18</sub> e 0,5 g de amostra do mesmo modo em 0,5 g de alumina neutra e 0,5 g de *Hyptis pectinata* contribui tão somente para a diminuição da intensidade dos compostos da matriz, ou seja, mesmo durante a passagem do solvente de lavagem estes compostos ainda permanecem presentes no extrato final. Sendo, portanto, descartada a utilização do solvente de lavagem antes do processo de extração por DMFS. A Figura 10 evidencia a comparação entre os cromatogramas obtidos com alumina e C<sub>18</sub> após a lavagem com 10 mL de hexano.



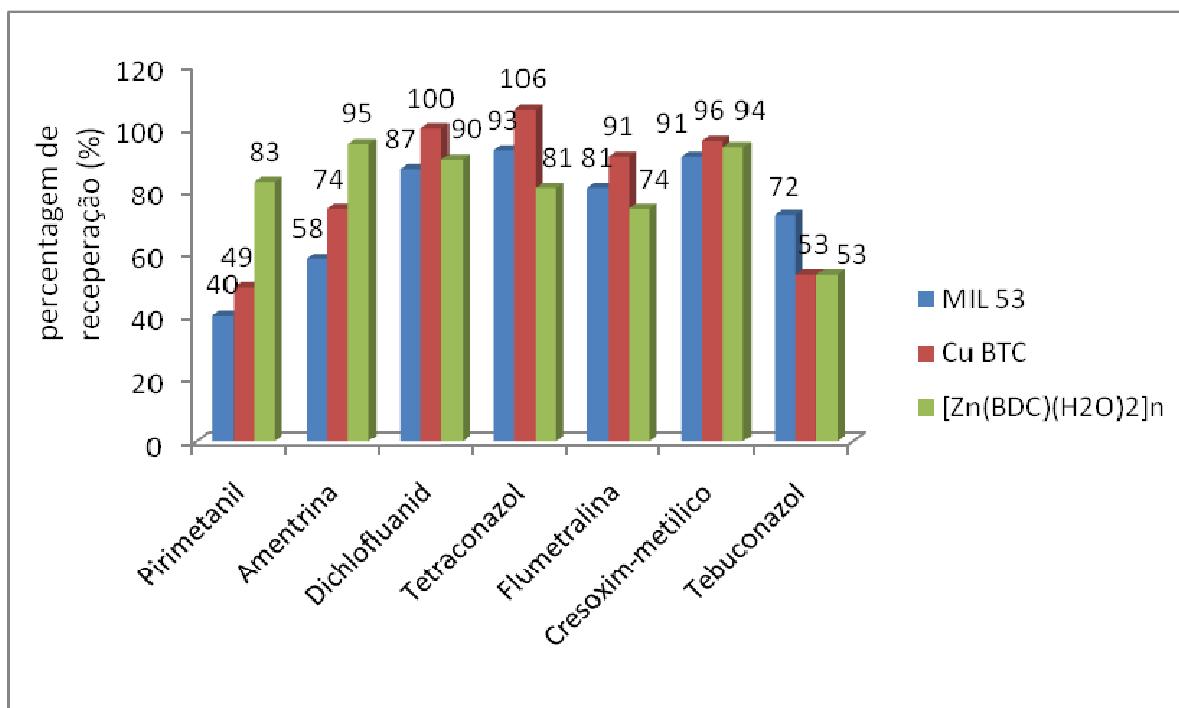
**Figura 10:** Cromatogramas obtidos por CG/EM no modo SCAN (a) lavagem com 10,0 mL de hexano e eluição 20,0 mL de diclorometano com alumina neutra como sorvente; (b) lavagem com 10,0 mL de hexano e eluição com 20,0 mL de diclorometano e sorvente C<sub>18</sub>.

### 5.6. Avaliação da eficiência de extração de pesticidas utilizando polímeros de coordenação

Para a avaliação da eficiência de extração dos pesticidas selecionados foram utilizados os polímeros de coordenação, CuBTC, MIL-53 e  $[\text{Zn}(\text{BDC})(\text{H}_2\text{O})_2]_n$  empregando a técnica de dispersão da matriz em fase sólida.

Os valores percentuais de recuperação obtidos com o polímero de  $[\text{Zn}(\text{BDC})(\text{H}_2\text{O})_2]_n$  mostraram-se adequados para a extração de resíduos de pirimetanil, ametrina, diclofluanida, tetaconazol, flumetrina, cresoxim-metílico e tebuconazol em planta medicinal *Hyptis pectinata*, pois os valores percentuais de recuperação estão compreendidos na faixa estabelecida pela literatura. Os valores foram pirimetanil (83%), ametrina (95%), diclofluanida (90%), tetaconazol (81%),

flumetrina (74%) e cresoxim-metílico (94%). Portanto, o sorvente convencional C<sub>18</sub> pode ser substituído pelo polímero coordenação (menor custo) avaliado para a extração de resíduos em *Hyptis pectinata*. A Figura 11 mostra os valores percentuais de recuperação para os sorventes CuBTC (n=4), [Zn(BDC)(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>]<sub>n</sub>.



**Figura 11:** Valores médios percentuais de recuperação obtidos para os polímeros de coordenação.

Para o CuBTC foram obtidos valores de recuperação abaixo do estabelecido pela literatura para o pirimetanil (49%) e tebuconazol (53%). No entanto, valores considerados dentro da faixa foram obtidos para a ametrina (74%), tetaconazol (106%), flumetralina (91%) cresoxim-metílico e 100% para o diclofluanida.

Com o polímero de coordenação MIL-53, os valores de recuperação variaram entre 40-93%, sendo 40% para o pirimetanil, 58% ametrina, 87% diclofluanida, 93% tetaconazol, 81% flumetralina, 91% cresoxim-metílico e 72% tebuconazol. Portanto, foi verificado diferentes interações entre os pesticidas e os polímeros, sendo que foi realizada a eluição com diclorometano para ambos os polímeros. Dentre os polímeros o mais eficiente na extração simultânea dos pesticidas foi o polímero de coordenação [Zn(BDC)(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>]<sub>n</sub>.

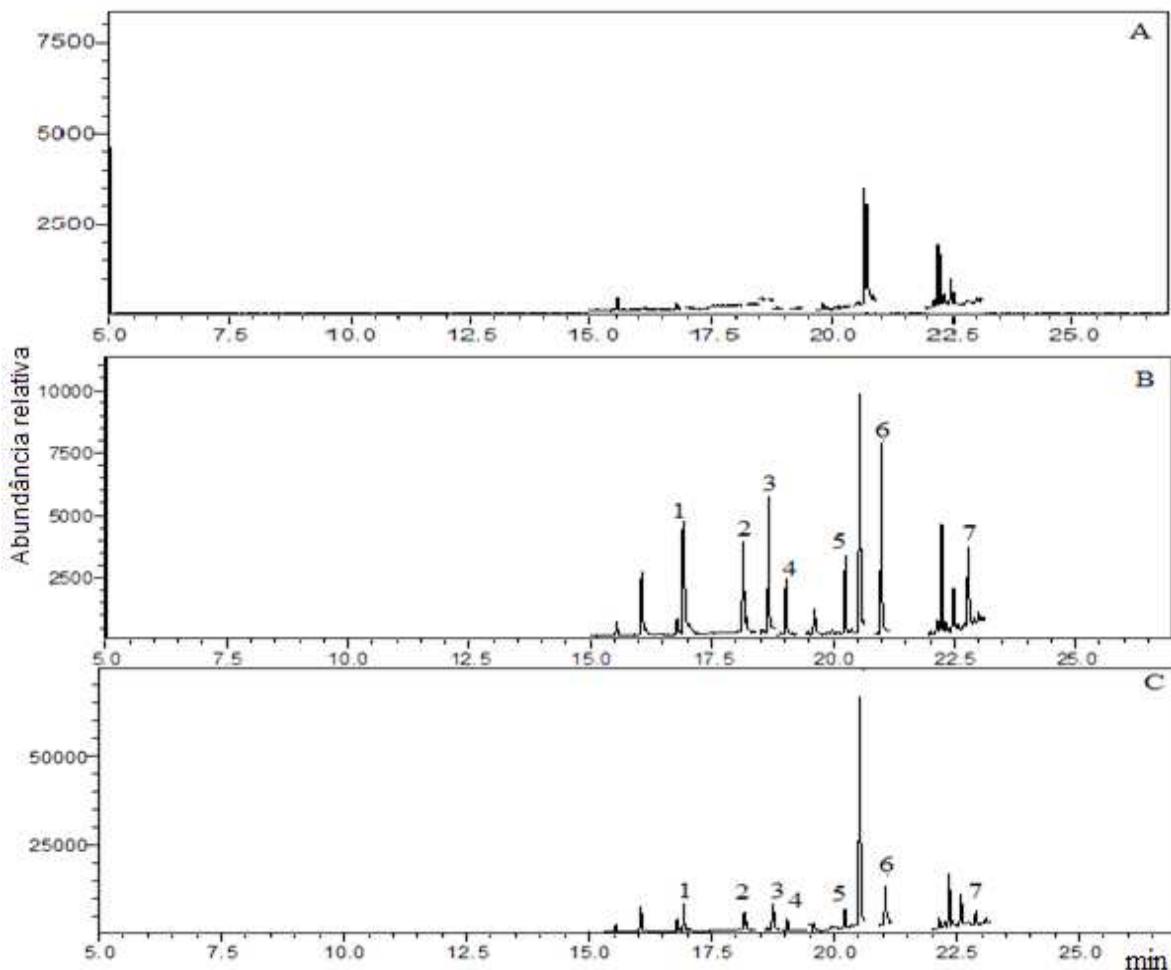
## 5.7. Validação do método

A etapa de validação do método assegura a credibilidade dos resultados das análises obtidas pelo método proposto. Neste trabalho foram considerados os parâmetros: exatidão, precisão, linearidade e limites de detecção e quantificação. A exatidão do método foi calculada por meio do estudo de recuperação, avaliando-se as concentrações de 0,05; 0,1; 0,5 e 1,0  $\mu\text{g g}^{-1}$ . A linearidade foi avaliada por meio da curva analítica preparada no extrato da matriz nas concentrações de 0,1; 0,25; 0,5; 5,0 e 7,0  $\mu\text{g mL}^{-1}$  em triplicata. O limite de detecção (LD) foi avaliado a partir do método visual e o limite de quantificação (LQ) foi estabelecido como sendo o menor nível de fortificação estudado em que se conhecem a exatidão e a precisão do método.

## 5.8. Parâmetros de validação para o método analítico

### 5.8.1. Seletividade

A seletividade ou método seletivo refere-se à capacidade de detecção de substâncias, ou seja, o método produz resposta para vários compostos químicos, porém pode distinguir ou discriminar a resposta de um composto químico dentre vários sinais (INMETRO, 2003). Portanto o método proposto mostrou-se seletivo para os sete pesticidas selecionados para o estudo. Sendo que não ocorreu em nenhuma das janelas de aquisições a co-eluição total dos pesticidas com compostos da matriz Figura 12.



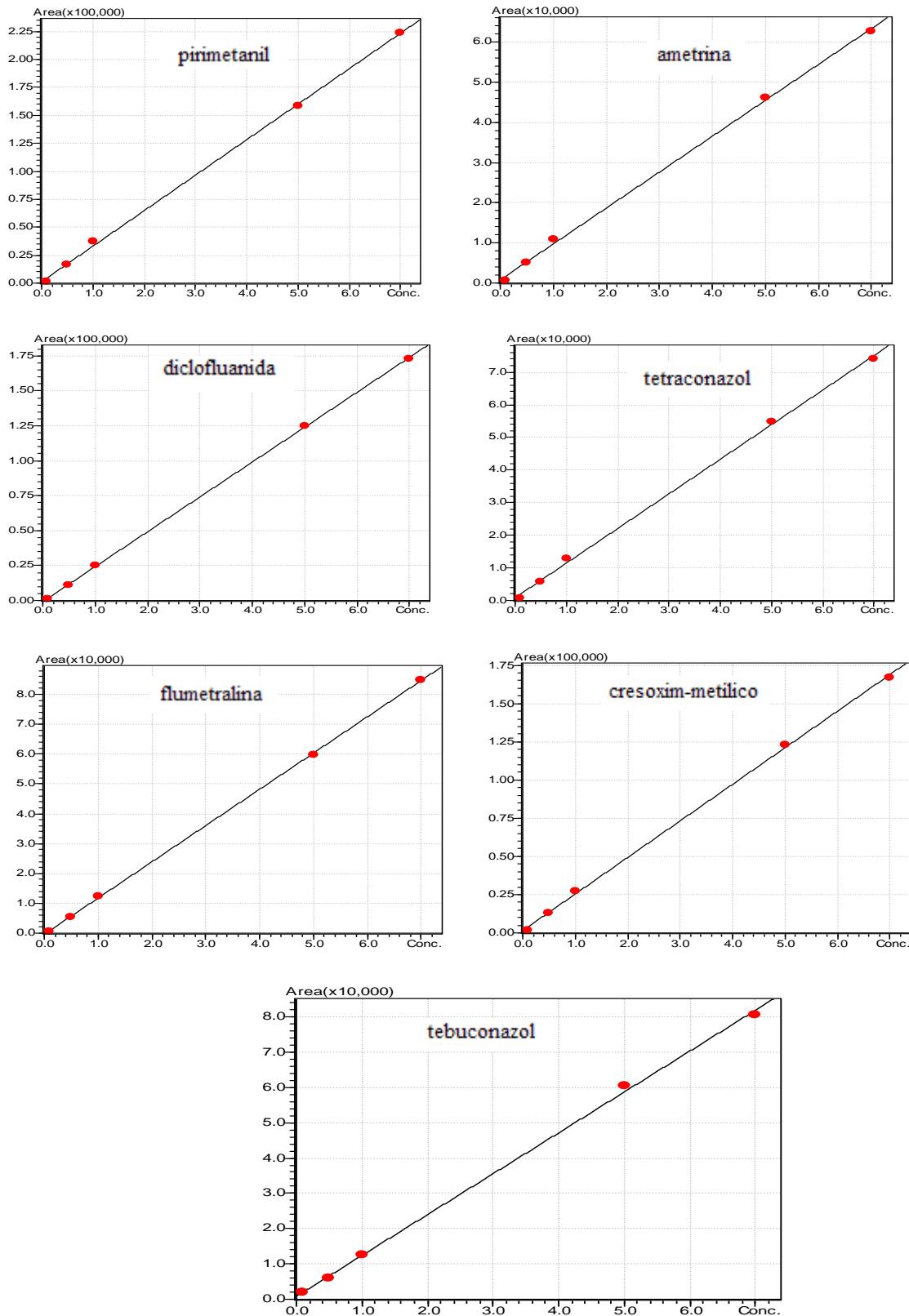
**Figura 12:** Cromatogramas obtidos por CG/EM no modo SIM: (A) controle (B) cromatograma da solução composta dissolvida no extrato da matriz na concentração de  $0,5 \mu\text{g g}^{-1}$ ; (C) extratos analisados no modo SIM. (1) pirimetanil, (2) ametrina, (3) diclofluanida, (4) tetriconazol, (5) flumetralina, (6) cresoxim-metílico e (7) tebuconazol, respectivamente. Para as condições cromatográficas de análise ver item “Equipamentos”.

### 5.8.2. Linearidade do método

A linearidade refere-se à capacidade do método de gerar resultados linearmente proporcionais à concentração do analito, enquadrados em faixa analítica especificada, e para se comprovar que são obtidas recuperações numericamente

iguais às concentrações de fortificação, o coeficiente linear deve ser o mais próximo possível de zero e o coeficiente angular igual a 1 (BRITO *et al.*, 2003).

A linearidade do método desenvolvido foi avaliada a partir das soluções padrão nas concentrações de 0,1; 0,5; 1,0; 5,0 e 7,0  $\mu\text{g mL}^{-1}$  preparadas no extrato da matriz em triplicata. Todos os pesticidas mostraram boa linearidade, pois os coeficientes de determinação foram acima de 0,9987. A Figura 13 mostra as curvas obtidas e na Tabela 8, a equação da reta, o coeficiente de determinação e o intervalo de concentração.



**Figura 13:** Curvas de regressão linear para os pesticidas estudados obtidas no extrato da matriz.

**Tabela 10:** Dados de regressão linear da curva de calibração.

Pesticida	Equação da reta	$r^2$	Intervalo de concentração ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ )
Pirimetanil	$y=31726X + 1321$	0,9992	0,05-7,0
Ametrina	$y=8935X + 803$	0,9989	0,1-7,0
Diclofluanida	$y=24948X - 740$	0,9998	0,05-7,0
Tetraconazol	$y=10606X + 859$	0,9987	0,1-7,0
Flumetralina	$y=12145X - 402$	0,9998	0,1-7,0
Cresoxim-metílico	$y=23917X + 1472$	0,9992	0,1-7,0
Tebuconazol	$y=11574X + 830$	0,9990	0,1-7,0

### 5.8.3. Limite de detecção e quantificação

Neste trabalho, o limite de detecção (LD) foi estabelecido como a menor concentração que o instrumento conseguiu detectar, porém não quantificar. O Limite de quantificação (LQ) foi considerado como menor nível de concentração estudado. A Tabela 9 mostra os valores de limites de detecção e quantificação, respectivamente.

**Tabela 11:** Limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ) do método MSPD desenvolvido.

Pesticida	LD ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )	LQ ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )
Pirimetanil	0,02	0,05
Ametrina	0,05	0,10
Diclofluanida	0,02	0,05
Tetraconazol	0,05	0,10
Flumetralina	0,07	0,10
Cresoxim-metílico	0,07	0,10
Tebuconazol	0,07	0,10

Para os pesticidas pirimetanil e diclofluanida foram obtidos valores de LD e LQ abaixo dos demais devido à boa detectabilidade (resposta) pelo detector EM.

### 5.8.4. Exatidão e Precisão

Os parâmetros exatidão e precisão são considerados os mais relevantes, pois a exatidão de um método pode ser definida como o grau de concordância entre os resultados individuais encontrados em um determinado ensaio e um valor de referência, aceito como verdadeiro (RIBANI *et al.*, 2004; LEITE, 1998). A exatidão foi avaliada neste trabalho a partir do estudo de recuperação. A precisão de um método representa a dispersão de resultados entre ensaios independentes, repetidos de

uma mesma amostra, amostras semelhantes ou padrões sob condições definidas e pode ser determinada em condições de repetibilidade, sendo avaliado através dos valores dos coeficientes de variação (INMETRO, 2003).

No estudo de recuperação deve ser levado em consideração o limite máximo de resíduo (LMR) da substância alvo (ABHILASH *et al.*, 2009; ZUIN *et al.*, 2004). Como não existem valores de concentração específicos para plantas medicinas no Brasil, as concentrações estudadas foram baseadas nos valores estudados por Zuin e colaboradores em *Passiflora spp.* Os limites máximos de resíduos (LMR) estabelecidos pela Farmacopéia Européia foram: 0,05  $\mu\text{g g}^{-1}$  para deldrin; 0,6  $\mu\text{g g}^{-1}$  lindano; 1,0  $\mu\text{g g}^{-1}$  malation e 1,8  $\mu\text{g g}^{-1}$  tetradifona. Os níveis de concentração avaliados no presente estudo foram 0,05; 0,10; 0,5 e 1,0  $\mu\text{g g}^{-1}$ , os quais estão de acordo com os valores de ZUIN e colaboradores (2004). A Tabela 10 apresenta aos valores de recuperação e coeficientes de variação do método DMFS para a análise de pirimetanil, ametrina, diclofluanida, tetriconazol, flumetalina, cresoxim-metílico e tebuconazol em amostras de *Hyptis pectinata*, avaliando as concentrações de 1,0; 0,5 e 0,1  $\mu\text{g/g}$  ( $n=4$ ) para os sorventes C<sub>18</sub>, MIL-53, CuBTC e [Zn(BDC)(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>]<sub>n</sub>.

Os valores de recuperação (exatidão) obtidos para pirimetanil, ametrina, diclofluanida, tetriconazol, flumetalina, cresoxim-metílico e tebuconazol, avaliando-se os níveis de concentração 0,05; 0,1; 0,1 e 1  $\mu\text{g/g}$ , mostraram adequados para a análise, pois os valores de percentuais de recuperação foram acima de 70% e os valores de percentuais de coeficiente de variação foram abaixo de 30% para todos os princípios ativos independente do agente dispersivo utilizado, valores estes que são estabelecido pela EP. Portanto, trata-se de método exato e preciso para a quantificação de resíduos de pesticidas em matriz da planta medicinal *Hyptis pectinata*.

**Tabela 12:** Eficiência da recuperação e coeficientes de variação, do método DMFS 53 para determinação de pesticidas em *Hyptis pectinata* (n=4).

Pesticida	Nível de fortificação ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )	Recuperação média % (CV %)			
		$\text{C}_{18}$	CuBTC	MIL-53	$[\text{Zn}(\text{BDC})(\text{H}_2\text{O})_2]\text{n}$
Pirimetanil	0,05	83 (9)	—	—	—
	0,1	108 (7)	—	—	89(7)
	1,0	92 (8)	—	—	83(6)
Ametrina	0,1	90 (15)	—	—	89(10)
	0,5	104 (9)	—	—	85(6)
	1,0	91 (8)	—	—	95(8)
Diclofluanida	0,05	127 (15)	—	—	—
	0,1	105 (11)	100 (10)	99 (12)	97(7)
	1,0	99 (12)	100(6)	87 (9)	90(7)
Tetraconazol	0,1	88 (9)	—	—	85(8)
	0,5	105 (11)	107 (9)	86 (3)	88(9)
	1,0	99 (11)	106(7)	93 (9)	81(10)
Flumetralina	0,1	110 (6)	—	—	80(9)
	0,5	113 (6)	102 (6)	104 (5)	92(6)
	1,0	101 (5)	91 (8)	81(7)	74(8)
Cresoxim-metílico	0,1	97 (14)	—	—	92(10)
	0,5	99 (10)	100 (10)	103 (4)	89(12)
	1,0	90 (4)	96 (11)	91 (5)	94(9)
Tebuconazol	0,1	96 (4)	—	—	85(5)
	0,5	85 (8)	—	—	79(6)
	1,0	88 (8)	—	—	73(6)

### 5.8.5. Aplicação do método desenvolvido

O método analítico foi aplicado em amostras de *Hyptis pectinata* procedentes do Mercado Municipal da cidade de Aracaju/SE, sendo que não foi detectada a presença dos pesticidas estudados.

## 6. CONCLUSÃO

O método proposto por dispersão da matriz em fase sólida (DMFS), empregando 0,5 g de C<sub>18</sub> como sorvente e 20 mL de diclorometano como solvente de eluição mostrou-se eficiente na extração dos resíduos de pirimetanil, ametrina, diclofluanida, tetriconazol, flumetralina, cresoxim-metílico e tebuconazol da planta medicinal *Hyptis pectinata*, pois foram obtidos valores percentuais de recuperação entre 83-127%, valores que estão incluso no intervalo de recuperação estabelecido pela literatura, para os três níveis de concentração estudados. Os limites de detecção variaram entre 0,02 a 0,07 µg/g e quantificação 0,05 a 0,1 µg/g e linearidade acima de 0,9987.

Assim como C<sub>18</sub>, os polímeros de coordenação mostraram-se eficiente na extração dos pesticidas estudados, os valores de recuperação e precisão dos polímeros avaliados variaram entre 81% a 104% com precisão entre 3 e 12% para o MIL-53 (para os pesticidas: diclofluanida, tetriconazol, flumetralina, cresoxim-metílico) ; de 91 a 107 % para CuBTC com precisão entre 6 e 11% (para os pesticidas: diclofluanida, tetriconazol, flumetralina, cresoxim-metílico) e com o polímero [Zn(BDC)(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>]<sub>n</sub> os valores percentuais de recuperação variaram entre 73 a 97% com precisão entre 6 a 12%.

O método desenvolvido foi aplicado em amostras reais coletadas no Mercado Municipal da cidade de Aracaju/SE, não sendo detectada a presença dos pesticidas estudados.

## 7. REFERÊNCIAS

ABHILASH, P.C.; SINGH, N. Multiple residue extraction for organochlorine pesticides in medicinal plants. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 81, p. 604-607, 2008.

ABHILASH, P.C.; SINGH, V.; SINGH, N. Simplified determination of combined residues of indane and other HCH isomers in vegetables, fruits, wheat, pulses and medicinal plant by matrix solid-phase dispersion (MSPD) followed by GC-ECD. **Food Chemistry**, v. 113, p.267-271, 2009.

ABOU-ARAB, A.A.K.; DONIA, A.M.A. Pesticide residues in some Egyptian spices and medicinal plants as affected by processing. **Food Chemistry**, v. 72, p. 439-445, 2001.

ABOU-ARAB, A.A.K.; KAWTHER, M.S.; TANTAWY, M.E.E.; BADEAA, R.I.; KHAYRIA, N. Quantity estimation of some contaminants in commonly used medicinal plants in the Egyptian market. **Food Chemistry**, v. 67, p. 357-363, 1999.

ABREU, A.B.G.; MATTA, M.H.R.; MONTAGNER, E. Desenvolvimento e validação de método de análise de glifosato em grãos de soja. **Química Nova**, v. 31, p. 5-9, 2008.

AQUINO, A.; NAVICKIENE, S. MSPD. Procedure for Determination of Carbofuran, Pyrimethanil and Tetraconazole Residues in Banana by GC-MS. **Chromatographia** v. 70, p. 1265-1269, 2009.

Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA); monografias, acessado em 23/01/2010.

ARRIGONI-BLANK, M.F.; ANTONIOLLI, A.R.; CAETANO, L.C.; CAMPOS ,A.D.; BLANK, A. F.; ALVES, P. B. Antinociceptive activity of the volatile oils of *Hyptis pectinata* (L.). Poit (lamiaceae) genotypes. **Phytomedicine**, v.15, p. 334-339, 2008.

BARCELÓ, D.; HENNION, C.M. Trace Determination of Pesticides and their Degradation Products in Water. **Techniques and Instrumentation in Analytical Chemistry**, p. 116-121, 1997.

BARKER, S.A. Matrix solid phase dispersion (MSPD). **Journal of Biochemical and Biophysical Methods**, v. 70, p.151-62, 2007.

BARKER, S.A. Matrix solid-phase dispersion. **Journal of Chromatography A**, v. 885, p.115-27, 2000.

BAYER: <http://www.BAYER.com>. acesso: 06/11/2010.

BOURRELLY, S.; LLEWELLYN, P. L.; SERRE, C.; MILLANGE, F.; LOISEAU, T.; FÉREY, G. Different Adsorption Behaviors of Methane and Carbon Dioxide in the Isotypic Nanoporous Metal Terephthalates MIL-53 and MIL-47. **Journal of the American Chemical Society**, v.127, p. 13519–13521, 2005.

BRITO, N.M.; JUNIOR, O.P.A.; POLESE, L.; RIBEIRO, M.L. Validação de métodos analíticos: estratégia e discussão. **Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, v.13, p. 129-146, 2003.

CAI, L.; XING, J.; DONG, L.; WU, C. Application of polyphenylmethylsiloxane coated fiber for solid-phase microextraction combined with microwave-assisted extraction for the determination of organochlorine pesticides in Chinese teas. **Journal of Chromatography A**, v.1015, p.11–21, 2003.

CALDAS, E.D.; SOUZA, L.C.K.R. Avaliação de risco crônico da ingestão de resíduos de pesticidas na dieta brasileira. **Revista de Saúde Pública**, v. 34, p. 37-529, 2000.

CAPRIOTTI, A.L.; CAVALIERE, C.; GIANSONTI, P.; GUBBIOTTI, R.; SAMPERI, R.; LAGANÀ, A. Recent developments in matrix solid-phase dispersion extraction **Journal of Chromatography A**, v.1217, p. 2521–2532, 2010.

CARVALHO, P.H.V.; BARRETO, A.S.; RODRIGUES, M.O.; PRATA, V.M.; BARRETO, P.; MESQUITA, M.E.; ALVES, S.; NAVICKIENE, S. Two-dimensional

coordination polymer matrix for solid-phase extraction of pesticide residues from plant *Cordia salicifolia*. **Journal of Separation Science**, v. 32, p. 2132-2138, 2009 a.

CARVALHO, P.H.V.; PRATA, V.M.; ALVES, P.B.; NAVICKIENE, S. Determination of six pesticides in the medicinal herb *Cordia salicifolia* by matrix solid-phase dispersion and gas chromatography/mass spectrometry. **Journal of AOAC International**, v. 92, p.1184-1189, 2009 b.

CHEN, G.; CAO, P.; LIU, R. A multi-residue method for fast determination of pesticides in tea by ultra performance liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry combined with modified QuEChERS sample preparation procedure. **Food Chemistry**, v. 125, p. 1406-1411, 2011.

CHIARADIA, M.C.; COLLINS, C.H.; JARDIM, I.C.S.F. O estado da arte da cromatografia associada à espectrometria de massas acoplada à espectrometria de massas na análise de compostos tóxicos em alimentos. **Química Nova**, v. 31, p. 623-636, 2008.

CHMELIK, C.; KÄRGER, J.; WIEBCKE, M.; CARO, J.; BATEN, J.M. V.; KRISHNA, R. Adsorption and diffusion of alkanes in CuBTC crystals investigated using infra-red microscopy and molecular simulations. **Microporous and Mesoporous Materials**, v. 117, p. 22–32, 2009.

CODEX ALIMENTARIUS-[http://www.codexalimentarius.net/mrls/pestdes/jsp/pest\\_qe.jsp](http://www.codexalimentarius.net/mrls/pestdes/jsp/pest_qe.jsp), acesso em 12/02/2010.

COLLINS, C.H.; BONATO, P.; BRAGA, G.L. Fundamentos de Cromatografia. Editora Unicamp. Campinas – São Paulo. 2006.

CRIADO, M. R.; FERNÁNDEZ, D. H.; PEREIRO, I. R.; TORRIJOS, R. C. Application of matrix solid-phase dispersion to the determination of polychlorinated biphenyls in fat by gas chromatography with electron-capture and mass spectrometric detection. **Journal of Chromatography A**, v. 1056, p.187-194, 2004.

COUTINHO, C.F.B.; TANIMOTO, S.T.; GALLI, A.; GARBELLINI, G.S.; TAKAYAMA, M.; AMARAL, R.B.; MAZO, L.H.; AVACA, L.A.; MACHADO, S.A.S. Pesticidas: mecanismo de ação, degradação e toxidez. **Revista Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, v.15, p. 65-72, 2005.

DAWIDOWICZ, A.L.; RADO, E. Matrix solid-phase dispersion (MSPD) in chromatographic analysis of essential oils in herbs. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 52, p. 79–85, 2010.

DELGADO, I.F.; PAUMGARTTEN, F.J.R. Intoxicações e uso de pesticidas por agricultores do Município de Paty do Alferes, Rio de Janeiro, Brasil. **Caderno Saúde Pública**, v. 20, p. 180-186, 2004.

DOREA, H.S.; LOPES, W.G. Aplicação da técnica de dispersão da matriz em fase sólida (DMFS) na análise de pesticidas em quiabo por CG-EM. **Química Nova**, v. 27, p. 892-896, 2004.

EPA: Environmental Protection Agency [http://cfpub.epa.gov/ncea/iris/index.cfm?fuseaction=iris.showQuickView&substance\\_nmbr=0208](http://cfpub.epa.gov/ncea/iris/index.cfm?fuseaction=iris.showQuickView&substance_nmbr=0208). Acesso em 07/11/2010.

EPA: Environmental Protection Agency. Disponível em: <<http://www.epa.gov/opp001/factsheets/tetraconazole.pdf>>. Acesso em 07/11/2010.

EPA:<http://www.epa.gov>. Acessado, 08/07/2010.

FANG, G.; MIN, G.; HE, J.; ZHANG, C.; QIAN, K.; WANG, S. Multiwalled Carbon Nanotubes as Matrix Solid-Phase Dispersion Extraction Absorbents To Determine 31 Pesticides in Agriculture Samples by Gas Chromatography-Mass Spectrometry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, p. 3040-3045, 2009

FERNANDES, J.O.; SOARES, C. Application of matrix solid-phase dispersion in the determination of acrylamide in potato chips. **Journal of Chromatography A**, v.1175, p.6, 2007.

FERRER, C.; GÓMEZ, M.J.; GARCÍA-REYES, J.F.; FERRER, I.; THURMAN, E.M.; FERNÁNDEZ-ALBA, A.R. Determination of pesticide residues in olives and olive oil

by matrix solid-phase dispersion followed by gas chromatography/mass spectrometry and liquid chromatography/tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1069, p. 183–194, 2005.

GALLI, A.; SOUZA, D. D.; GARBELLINI, G. S.; COUTINHO, C. F. B.; MAZO, L. H.; AVACA, L. A. MACHADO, S. A. S. Utilização de técnicas eletroanalíticas na determinação de pesticidas em alimentos. **Química Nova**, v. 29, p. 105-112, 2006.

GARCÍA-LÓPEZ, M.; CANOSA, P.; RODRÍGUES, I. Trends and application of matrix solid-phase dispersion. **Analytical Bioanalytical Chemistry**, v. 391, p. 963-974, 2008.

HO, W.; HSIEH, S. Solid phase microextraction associated with microwave assisted extraction of organochlorine pesticides in medicinal plants. **Analytica Chimica Acta**, v.428, p.111–120, 2001.

HU, Y.Y.; ZHENG P.; HEA Y.Z.; SHENG, G.P. Response surface optimization for determination of pesticide multiresidues by matrix solid-phase dispersion and gas chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 1098, p. 188–193, 2005.

HUIE, C.W. A review of modern sample-preparation techniques for the extraction and analysis of medicinal plants. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v.373, p.23–30, 2002.

IMOTO, M.N. Validação de método multirresíduos para pesticidas organohalogenados em maçã por cromatografia gasosa com captura de elétrons (GC/ECD) e cromatografia gasosa com espectrometria de massa (GC/MS), 2004. 21p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Paraná. 2004.

INMETRO-INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA-**Orientações sobre validação de métodos de ensaios químicos**. Rio de Janeiro. DOQ-CGCRE-008. Revisão 01. Marc. 2003.

INMETRO: Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial. Orientações sobre Validação de Métodos de Ensaios Químicos. DOG-CGCRE-008, 2003.

JARDIM, I.C.S.F.; ANDRADE, J.A. Resíduo de agrotóxicos em alimentos: uma preocupação ambiental global-um enfoque às maçãs. **Química Nova**, v. 32, p. 996-1012, 2009.

JUNIOR, V.F.V.; PINTO, A.C.; MACIEL, M.A.M. Plantas medicinais: cura segura?. **Química Nova**, v. 28, p. 519-528, 2005.

KOSALEC, I.; CVEK, J.; TOMIC, S. Contaminants of medicinal herbs and herbal products. **Herb and Herbal Product Contaminants**. v. 60, p. 485-501, 2009.

KRISTENSON, M. E; RAMOS, L; BRINKMAN, U. T. Recent advances in matrix solid-phase dispersion. **Trends in Analytical Chemistry**. v. 25, no 2. 2006.

LANÇAS, F. M. Extração em fase sólida (SPE). São Carlos: RiMa, 2004a.

LANÇAS, F.M. Validação de métodos Cromatográficos de Análise. São Carlos: RiMa, 2004b.

LEE, S.J.; PARK, S.; CHOI, J.Y.; SHIM, J.H.; SHIM, E.H.; CHOI, J.H.; KIM, S.T.; EL-ATY, A.A.; JIN, J.S.; BAE, D.W.; SHIN, S.C. Multiresidue analysis of pesticides with hydrolysable functionality in cooked vegetables by liquid chromatography tandem mass spectrometry. **Biomedical Chromatography**, v. 23, p. 719-731, 2009.

LEITE, F. *Validação em Análise Química*. Campinas. Editora Átomo. 1998.

LI-NA, Z.; LEI Z.Z.; WEN-ZHEN, W.; DAI-ZHENG, L.; PENG, C.; ZONG-HUI, J.; SHI-PING, Y.  $[\text{Zn}(\text{BDC})(\text{H}_2\text{O})_2]_n$ : a novel blue luminescent coordination polymer constructed from BDC-bridged 1-D chains via interchain hydrogen bonds (BDC=1,4-benzenedicarboxylate). **Inorganic Chemistry Communications**, v. 5, p. 1017-1021, 2002.

LINDHOLM, J. Development and Validation of HPLC methods for analytical and preparative purposes. 2004. Tese doutorado. Uppsala University.

LIRA, A.F. Toxicidade aguda e atividade antinociceptiva do extrato aquoso e óleo essencial da *hyptis pectinata* L. Poit (sambacaitá), em modelo murino de artrite induzida por cristais de urato de sódio, 2006. 20p. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, 2006.

LLASERA M.P.G.; GÓMEZ-ALMARAZ, L.; VERA-AVILA L.E., PEÑA-ALVAREZ, A. Matrix solid-phase dispersion extraction and determination by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection of residues of glyphosate and aminomethylphosphonic acid in tomato fruit. **Journal of Chromatography A**, v. 1093, p. 139–146, 2005.

MAFFEI, D.F.; NOGUEIRA, A.R.A.; BRONDI, S.H.G. Determinação de resíduos de pesticidas em plasma bovino por cromatografia gasosa-espectrometria de massas. **Química Nova**, v.32, p.1713-1716, 2009.

MAMANI, M.C.V.; ALEIXO, L.M.; ABREU, M.F.; RATH, S. Simultaneous determination of cadmium and lead in medicinal plants by anodic stripping voltammetry. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 37, p. 709–713, 2005.

MELO, G.B.; SILVA, R.L.; MELO, V.A.; ANTONIOLLI, Â.R.; SOUSA, M.E.J.; JORDANI, M.C.; CASTRO-e-SILVA Jr, O. Effect of the aqueous extract of *hyptis pectinata* on liver mitochondrial respiration. **Phytomedicine**, v. 12, p. 359-362, 2005.

MELO, J.G.; MARTINS, J.D.G.R.; AMORIM, E.L.C.; ALBUQUERQUE, U.P. Qualidade de produtos a base de plantas medicinais comercializados no Brasil: castanha-da-índia (*Aesculus hippocastanum* L.), capim-limão (*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf ) e centela (*Centella asiatica* (L.) Urban). **Acta Botânica Brasílica**, v. 21, p. 27-36, 2007.

MILNE, G.W.A. Pesticides: an international Guide to 1800 Pest Control Chemicals. Second Edition.2004.

MINUTI, L.; PELLEGRINO, R. Determination of phenolic compounds in wines by novel matrix solid-phase dispersion extraction and gas chromatography/mass spectrometry Original. **Journal of Chromatography A**, v. 1185, p. 23-30, 2008.

MORACCI, L.F.S.M. Resíduos de agrotóxicos em lodo de estação de tratamento de água: Validação de metodologia utilizando cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas EM TANDEM (LC-MSMS). 2008. Dissertação de mestrado. São Paulo.

MOREDA-PIÑEIRO, J.; ALONSO-RODRÍGUEZ, E.; LÓPEZ-MAHÍA, P.; MUNIATEGUI-LORENZO, S.; PRADA-RODRÍGUEZ, D.; ROMARÍS-HORTAS, V.; MÍGUEZ-FRAMIL, M.; MOREDA-PIÑEIRO, A.; BERMEJO-BARRERA, A. Matrix solid-phase dispersion of organic compounds and its feasibility for extracting inorganic and organometallic compounds. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 28, p. 110-116, 2009.

MORENO, J.L.F.; FRENICH, A.G.; BOLAÑOS, P.P.; VIDAL, J.L.M. Multiresidue method for the analysis of more than 140 pesticides residues in fruits and vegetables by gas chromatography coupled to triple quadrupole mass spectrometry. **Journal of Mass Spectrometry**, v. 43, p. 1235-1254, 2008.

NASCIMENTO, P.F.C; ALVIANO, W.S; NASCIMENTO, A.L.C; SANTOS, P.O.; BLANK, M.F.A; JESUS, R.A.; AZEVEDO, V.G.; ALVIANO, D.S; BOLOGNESE, A. M.; TRINDADE, R.C. *Hyptis pectinata* essential oil: chemical composition and anti-*Streptococcus mutans* activity. **Oral Diseases**, v. 14, p. 485-489, 2008.

NAVICKIENE, S.; RIBEIRO, M.L. A simple and rapid extraction for gas chromatographic determination of thiabendazole and imazalil residues in lemons. **Journal of the Brazilian Chemistry Society**, v. 13. p. 592-596, 2002.

PERRET, D.; GENTILI, A.; MARCHESE, S.; SERGI, M.; D'ASCENZO, G. Validation of a method for the determination of multiclass pesticide residues in fruit juices by

liquid chromatography/tandem mass spectrometry after extraction by matrix solid-phase dispersion. **Journal of AOAC International**, v. 85, p. 724-730, 2002.

Pesticide Properties Data Base (PPDB):<http://sitem.herts.ac.uk/aeru/footprint/en/>. Acesso em 12/07/2010.

PINHO, G.P.; NEVES, A.A.; QUEIROZ, M.E.L.R. Análise de resíduos de agrotóxicos em tomates empregando dispersão da matriz em fase sólida (DMFS) e cromatografia gasosa. **Química Nova**, v. 32, p. 92-98, 2009.

PINHO, G.P.; SILVÉRIO, F.O.; NEVES, A.A.; QUEIROZ, M.E.L.R.; STARLING, M.A. V.M. Influência dos constituintes químicos dos extratos de diferentes matrizes na resposta cromatográfica de agrotóxicos. **Química Nova**, v. 33, p. 909-913, 2010.

PINHO, G.P.; NEVES, A.A.; QUEIROZ, M.E.L.R.; SILVERIO, F.O. Efeito de matriz na quantificação de agrotóxicos por cromatografia gasosa. **Química Nova**, v.32, p. 987-995, 2009.

PIZZUTTI, I.R.; SCHWERZ, L.; VIARO, N.S.S.; ADAIME, M.B. Estudo da Determinação dos Grupos Silanóis (Si-OH) em Sílica: Aplicação à Materiais de Recheio Utilizados em Cromatografia Gasosa. **Química Nova**, v. 20, p. 267-269, 1997.

Qi, X. Development of a matrix solid-phase dispersion-sonication extraction method for the determination of fungicides residues in ginseng extract. **Food Chemistry**, v. 121, p. 758–762, 2010.

RIBANI, M.; BOTTOLI, C.B.G.; COLLINS, C.H.; JARDIM, I.C.S.F.; MELO, L.F.C. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova**, v. 27, p. 771-778, 2004.

RIBEIRO, F.A.L.R.; FERREIRA, M.M.C. Planilha de Validação: uma nova ferramenta para estimar figuras de mérito na validação de métodos analíticos univariados. **Química Nova**, v. 31, p.164-171, 2008.

RISSATO, S.R.; GALHIANE, M.S.; KNOLL, F.R.N.; ANDRADE, R.M.B.; Almeida, M. V. Método multirresíduo para monitoramento de contaminação ambiental de pesticidas na região de bauru (SP) usando mel como bio-indicador. **Química Nova**, v. 29, p. 950-955, 2006.

RODRIGUES, M.V.N., REYES F.G.R., MAGALHÃES, P.M.; RATH, S. GC-MS Determination of Organochlorine Pesticides in Medicinal Plants Harvested in Brazil. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 18, p. 135-142, 2007.

SANCHES, S.M.; SILVA, C.H.T.P.; CAMPOS, S.X.; VIEIRA, E.M. Pesticidas e seus respectivos riscos associados à contaminação da água. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, v. 13, p. 53-58, 2003.

SÁNCHEZ-BRUNETE, C.; MIGUEL, E.; TADEO, J.L. Determination of organochlorine pesticides in sewage sludge by matrix solid-phase dispersion and gas chromatography–mass spectrometry. **Talanta**, v. 74, p. 1211, 2008.

SANTOS, P.O.; COSTA, M.J.C.; ALVES, J.A.B.; NASCIMENTO, P.F.C.; MELO, D.L. F.M.; BARBOSA JR, A.M.; TRINDADE, R.C. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Hyptis pectinata* (L.) Poit. **Química Nova**, v. 31, p. 1648-1652, 2008.

SILVA, J.M.; ZINI, C.A.; CARAMÃO, E.B.; CANIZARES, E.M.P.N.; LEAL, K.A. Desenvolvimento de métodos analíticos para determinação de agrotóxicos em sedimentos por cromatografia gasosa monodimensional e bidimensional abrangente com micro detector de captura de elétrons. **Química Nova**, v. 33. p. 591-597, 2010.

SILVA, M. G. D. ; AQUINO, A. ; DOREA, H. S. ; NAVICKIENE, S. Simultaneous determination of eight pesticides in coconut using MSPD and GC/MS. **Talanta**, v. 76, p. 680-684, 2008.

SILVA, R.L.; MELO G.B.; ANTONIOLLI, A.R.; LIMA, S.O.; MELO, V.A.; RAMALHO F.S.; RAMALHO, L.N.Z.; ZUCOLOTO, S.; CASTRO, O.; JÚNIOR, S. Efeito do extrato aquoso da *Hyptis pectinata* sobre a proliferação de hepatócitos após hepatectomia parcial. **Acta Cirurgica Brasileira**, v. 17, p. 101-105, 2002.

SILVERSTEIN, R. M. Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos. 3º Edição. Rio de Janeiro. Editora Guanabara Dois. S.A. 2002.

SINC:<http://www.sinc.com.br/produtos/cromatografia-a-gas/cromatografo-a-gs-gcms/gcms-qp2010-plus>. acesso em 29 janeiro, 2010.

SKOOG, D.A.; HOLLER, F.J.; NIEMAM, T.A. Princípios de Análise Instrumental. 5º ed. Porto Alegre: BOOKMAN Companhia editora, 2002.

STASI, L. C. D. Plantas medicinais: verdades e mentiras: o que os usuários e profissionais de saúde precisam saber .Editora UNESP, São Paulo, 2007.

TOUREIRO, C.M.; BRASI, F.C.; OLIVEIRA, M.R.; SERRALHEIRO, R.P. Caracterização do enraizamento da beterraba sacarina (*Beta vulgaris L.*) num solo de aluvião. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 30, p. 500-509, 2007.

VISNEVSCHI-NECRASOVA, T.; CUNHA, S.C.; NUNES, E.; OLIVEIRA, M.B.P.P. Optimization of matrix solid-phase dispersion extraction method for the analysis of isoflavones in *Trifolium pretense*. **Journal of Chromatography A**, v. 1216, p. 3720–3724, 2009.

WANDERLEY, K.A.  $[Zn(BDC)(H_2O)_2]_n$ : estudo espectroscópico de fotoluminescência e extração em fasesólida de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos. (Dissertação de Mestrado em Química)–Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2010.

WANG, S.; MU, H.; BAI, Y.; ZHANG, Y.; LIU, H. Multiresidue determination of fluoroquinolones, organophosphorus and N-methyl carbamates simultaneously in porcine tissue using MSPD and HPLC–DAD. **Journal of Chromatography B**, v. 877, p. 2961-2966, 2009.

ZARONI, M.; PONTAROLO, R.; ABRAHÃO, W.S.M.; FÁVERO, M.L.D; CORREA JÚNIOR, C.; STREMEL, D.P. Qualidade microbiológica das plantas medicinais

produzidas no Estado do Paraná. **Revista Brasileira Farmacognosia**, v. 14, p. 29-39, 2004.

ZUIN, V.G.; VILEGAS, J.H.Y. Pesticide Residues in Medicinal Plants and Phytotherapies. **Phytotherapy Research**, v. 14, p. 73-88, 2000.

ZUIN, V.G.; YARIWAKE, J.H.; LANCAS, F.M. Analysis of pesticide residues in Brazilian medicinal plants: matrix solid phase dispersion versus conventional (European Pharmacopoeia) methods. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v.14, p 304-309, 2003.

ZUIN, V.G.; YARIWAKE, J.H.; BICCHI, C. Avaliação da qualidade de drogas vegetais á base de passiflora spp. comercializadas no Brasil: presença de resíduos de pesticidas. **Revista Brasileira de plantas Medicinais**, v. 6, p.60-66, 2004.

## **Anexos**

**Curriculum Lattes****Artigos**

1. AQUINO, A.; BEZERRA, D. S.S.; NAVICKIENE, S. A Matrix Solid-Phase Dispersion Method for the Extraction of Seven Pesticides from Mango and Papaya. **Journal of Chromatographic Science**, v. 9, p. 750-754, 2010.
2. BEZERRA, D. S.S ; SILVA, M. M. S. ; CARVALHO, Pedro Henrique Viana de ; AQUINO, A. ; NAVICKIENES. . MSPD Procedure combined with GC-MS for the determination of procymidone, bifenthrin, malathion and pirimicarb in honey. **Química Nova**, v. 33, p. 1348-1351, 2010.
3. AQUINO, A. ; WANDERLEY, K. A. ; PAIVA-SANTOS, C. O. ; SA, G. F. ; ALEXANDRE, M. R. ; A. JUNIOR, S. ; NAVICKIENE, S. . Coordination polymer adsorbent for matrix solid-phase dispersion extraction of pesticides during analysis of dehydrated *Hyptis pectinata* medicinal plant by GC/MS. **Talanta**, v. 83, p. 631-636, 2010.
4. AQUINO, A.; NAVICKIENE, S. MSPD Procedure for Determination of Carbofuran, Pyrimethanil and Tetraconazole Residues in Banana by GC-MS. **Chromatographia**, v. 70, p. 1265-1269, 2009.
5. SANTOS, T F S ; AQUINO, A. ; DOREA, H. S. ; NAVICKIENE, S. . MSPD procedure for determining buprofezin, tetradifon, vinclozolin and bifenthrin residues in propolis by gas chromatography-mass spectrometry. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 390, p. 1425-1430, 2008.
6. SILVA, M. G. D.; AQUINO, A.; DOREA, H. S.; NAVICKIENE, S. Simultaneous determination of eight pesticides in coconut using MSPD and GC/MS. **Talanta**, v. 76, p. 680-684, 2008.

## Resumos

1. AQUINO, A.; GAUJAC, A.; SOUZA, M.R.R.; ANDRADE, S.T.; ALVES, P.B.; DOREA, H.S.; NAVICKIENE, S. Desenvolvimento de método para análise de resíduos de pesticidas na planta medicinal *Hyptis pectinata* (sambacaitá) por MSPD e GC/MS. In: Sociedade Brasileira de Química, 2010, Águas de Lindóia. SBQ, 2010.
2. GAUJAC, A.; AQUINO, A.; QUEIROZ, L.P.; PINTO, A.C.; NAVICKIENE, S.; ANDRADE, J.B. Otimização de metodologia MSPD para a caracterização da fração de alcaloides da *Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poir. por GC-MS. In: Sociedade Brasileira de Química, 2010, Águas de Lindóia. SBQ, 2010.
3. MOURA, K.O.; COSTA, A.S.; AQUINO, A.; COSTA, A.S.; OLIVEIRA, C.M.; BARBOSA, C.D.A.E.S.; SANTOS, J.C.; REIS, J.O.M.; EVANGELINO, T.S.; ROMAO, L.P.C.; CARDOSO, A.A. Desenvolvimento de um amostrador passivo e de baixo custo para amostragem de NO<sub>2</sub> no ambiente. In: ENSEQ, 2010, Aracaju. ENSEQ, 2010.
4. SOUZA, M.R.R. ; MACIEL, S.T ; AQUINO, A.; GARCIA, R.J.L ; DOREA, H.S. Detrminação de 12 pesticidas de diferentes classes em água por Extração em Fase Sólida (SPE) e GC/MS. In: III EnSeQ, 2010, Aracaju. III EnSeQ, 2010.
5. MACIEL, S. T.; SOUZA, M. R. R.; GARCIA,R. J. L.; AQUINO, A.; DOREA, H. S. Determinação de vinte pesticidas organoclorados em águas superficiais do Platô de Neópolis por SPE e GC/ECD. In: III EnSeQ, 2010, Aracaju. III EnSeQ, 2010.
6. GAUJAC, A.; AQUINO, A.; PINTO, A.C.; ANDRADE, J.B. Otimização de metodologia MSPD para a caracterização da fração de alcaloides da *Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poir. por GC-MS. In: III ENSEQ, 2010, Aracaju. III ENSEQ, 2010.
7. WANDERLEY, K.A.; AQUINO, A.; NAVICKIENE, S.; Alves Jr,S.  $[Zn(BDC)(H_2O)_2]_n$  Coordination Polymer as Adsorbent Material for Matrix Solid-Phase Dispersion for the Extraction of Pesticides from Medicinal Plant *Hyptis Pectinata*. In: International Conference on Food and Agriculture Applications of Nanotechnologies, 2010, São Pedro. International Conference on Food and Agriculture Applications of Nanotechnologies, 2010.
8. MACIEL, S.T.; SOUZA, M.R.R.; AQUINO, A.; NAVICKIENE, S.; DOREA, H.S. DETERMINAÇÃO DE PESTICIDAS ORGANOCLORADOS EM ÁGUA POR GC/ECD. In: 20º Encontro de Iniciação Científica da UFS, 2010, Aracaju. 20º

Encontro de Iniciação Científica da UFS, 2010.

9. AQUINO, A.; COSTA, D.S.; ALVES,P.B.; DOREA, H.S.; NAVICKIENE, S. Desenvolvimento de Método para Análise de Resíduos de Pesticidas na Planta Medicinal Malva Branca por MSPD e GC/MS. In: 32 Reunião Anual Sociedade Brasileira de Química, 2009, Fortaleza.
10. Barin G.B.; SANTANA, G.C.; AQUINO, A.; NAVICKIENE, S.; GIMENEZ, I.F.; ALMEIDA, L.E. ; Barreto, L.S. Identificação de Esteróides no Biossólido coletado na Estação de Tratamento de Esgoto (ETE) de Aracaju por GC/MS. In: 32 Reunião Anual Sociedade Brasileira de Química, 2009, Fortaleza.
11. ANDRADE, M.V.A.S.; MALTA, M.; PEREIRA, M.G.; COSTA, A.S.; AQUINO, A.; SILVA, A.M.; SOUSA, A.N. Decomposição de pesticidas carbamatos assistida por ultra-som. In: 32a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2009, FORTALEZA.
12. AQUINO, A.; DOREA, H.S.; ALVES, P.B.; NAVICKIENE, S. MSPD procedure for determining pesticide residues in medicinal herb *hyptis pectinata* by GC/MS. In: 2 Latin American Pesticides Resíduos workshop, 2009.
13. AQUINO, A. Método para análise de resíduos de pesticidas em polpa de manga utilizando as técnicas MSPD e GC/MS. In: 15 Encontro Nacional de Química Analítica , 3 Congresso Iberoamericano de Química Analítica, 2009.
14. AQUINO, A. Desenvolvimento de método para análise de resíduos de pesticidas de diferentes classes químicas em mel por MSPD e GC/MS. In: 15 Encontro Nacional de Química Analítica 3 Congresso iberoamericano de Química Analítica, 2009, Salvador. ENQA, 2009.
15. ANDRADE, M.V.A.S.; ARAUJO, A.C.B.; AQUINO, A.; NAVICKIENE, S. Validação de método para determinação de hidroximetilfurfural em méis por Cromatografia de Alta Eficiencia. In: ENQA, 2009, Salvador. ENQA, 2009.
16. AQUINO, A.; BARRETO, A.S.; MESQUITA, M.E.; DOREA, H.S.; NAVICKIENE, S. . Evaluation of MCM-41 Mesoporous Material in the Solid-phase extraction pesticides from mango. In: 3th International Workshop on crop Protection Chemistry in Latin America, 2009, Rio de Janeiro.
17. AQUINO, A.; DOREA, H. S.; NAVICKIENE, S. MSPD procedure for determining pyrimethanil, carbofuran and tetriconazole residues in banana using GC/MS. In: COLACRO XII, 2008, Florianópolis.

18. AQUINO, A.; EMIDIO, E.S.; DOREA, H.S.; NAVICKIENE, S. Determinação de BTEX em águas subterrâneas e de efluentes por Purge and Trap e GC/FID. In: Encontro Nacional de Química Ambiental, 2008, Aracaju.
19. CARVALHO, P.H.V.; NAVICKIENE, S.; DOREA, H.S.; AQUINO, A. Desenvolvimento de Método para Determinação de Resíduos de Pesticidas em Plantas Medicinais por MSPD e GC/MS. In: 31<sup>a</sup> Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2008, Águas de Lindóia.
20. AQUINO, A.; DOREA, H.S.; EMIDIO, E.S.; NAVICKIENE, S. Otimização de método para a análise de resíduos de pesticidas em matriz de mamão por MSPD e GC-MS. In: 14<sup>º</sup> Encontro Nacional de Química Analítica, 2007, João Pessoa.
21. AQUINO, A.; DOREA, H.S.; NAVICKIENE, S. Otimização de procedimento para análise de resíduos de pesticidas em banana utilizando MSPD e GC/MS. In: 30 Reunião Anual da sociedade Brasileira de Química, 2007, Águas e Lindóia.
22. EMIDIO, E.S.; AQUINO, A.; DOREA, H.S.; NAVICKIENE, S. Comparação da extração ultra-som com soxhlet para análise de alcanos em sedimentos ambientais. In: 14<sup>º</sup> Encontro Nacional de Química Analítica, 2007, João Pessoa.
23. AQUINO, A.; VANINA, V.C.; Santos, G.P.; DOREA, H.S.; NAVICKIENE, S. Otimização de metodologia para a análise de resíduos de pesticidas em matriz de mamão por MSPD e GC-MS. In: 7 Simpósio Latino Americano de Ciência de Alimentos, 2007, Campina.
24. AQUINO, A.; DOREA, H.S.; NAVICKIENE, S. Otimização de procedimento para análise de resíduos de pesticidas em banana utilizando MSPD e GC/MS. In: Sociedade Brasileira de Química, 2007, Águas de Lindóia. Sociedade Brasileira de Química, 2007.
25. AQUINO, A. Validação de Metodologia Para Análise de Resíduos de Pesticidas em Polpa de Banana por MSPD GC-MS. In: 17 encontro de Iniciação Científica 3 Encontro de Pós-Graduação, 2007, Aracaju.
26. Silva, M.G.D.; AQUINO, A.; NAVICKIENE, S. Determinação de pesticidas em polpa de coco utilizando MSPD e /CG/MS. In: II Congreso Iberoamericano y IV Congreso Argentino de Química Analítica, 2007, Argentina.
27. EUFRASIO, C.A.S.; AQUINO, A.; DOREA, H.S.; NAVICKIENE, S. Análise de HPA em águas ambientais por GC-MS. In: Sociedade Brasileira de Química, 2006, Águas de Lindóia.
28. NAVICKIENE, S. ; AQUINO, A. ; WANDERLEY, K. A ; Alves Jr, S . Coordenation polymer as sorvent material for the MSPD extração of pesticides residues from

Hyptis pectinata medicinal plant by GC/MS. In: LAPRW, 2011, Montevideo. 3 workshop Latinoamericano sobre resíduos de pesticidas Alimentos e Meio Ambiente, 2011.