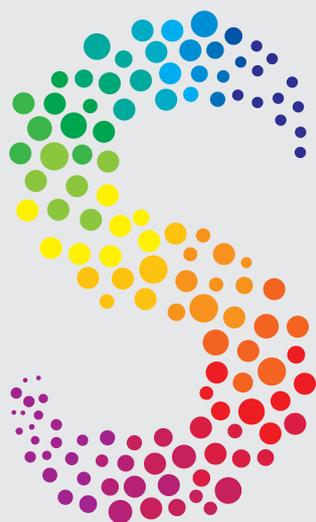


Simpósio Brasileiro de Cromatografia e Técnicas Afins
Campos do Jordão (SP), Brasil



SIMCRO
2014

LIVRO DE RESUMOS
BOOK OF ABSTRACTS



APOIO:

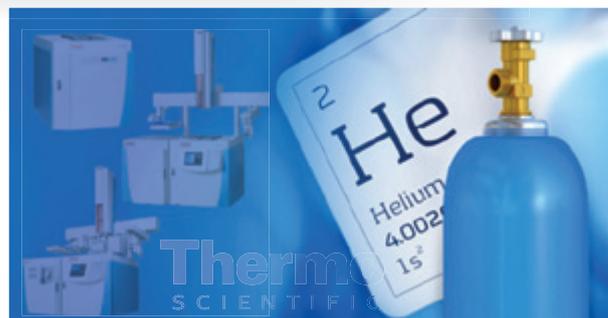


Alcance a maior produtividade

com a evolução da GC-MS/MS de máximo desempenho



- Laboratórios que analisam dioxinas, PCBs, pesticidas, esteroides e outros analitos em amostras ambientais, biológicas e de alimentos têm agora acesso a esta nova geração de GC-MS/MS que proporciona maior sensibilidade em menor tempo de análise.
- EvoCell de tecnologia inovadora triplica a velocidade das transições SRM para triagem e quantificação de >1000 compostos em uma única corrida, com limites de detecção baixos.
- Os software Timed-SRM e AutoSRM otimizam e automatizam a programação do SRM simplificando a MS/MS.
- O TSQ 8000 Evo abre as portas para a implantação de métodos de alta complexidade em laboratórios de rotina



Compatível com o módulo Instant Connect Helium Saver da Thermo Scientific que reduz significativamente o consumo de hélio sem alterar o método



Velocidade sem comparação

A solução é o GCMS-TQ8040 Espectrômetro de Massas - Cromatógrafo em Fase Gasosa Triplo Quadrupolo, que proporciona velocidade, precisão e a operação fácil que todo cientista almeja.

Alta Sensibilidade e Seletividade Reforçada

- Patentado pela Shimadzu, fonte de íons de alta eficiência oferece sensibilidade inigualável
- Lentes Overdrive reduzem o ruído neutro
- Variedade de modos de medição oferecem seletividade reforçada e flexibilidade de método.

Desempenho de Alta Velocidade

- UFsweeper permite 600 transições MRM por segundo
- ASSP permite scanning de alta velocidade em 20.000u por segundo
- Medições Fast Scan/ MRM oferecem uma riqueza de informações qualitativas e quantitativas

Facilidade de Uso Definitiva

- Função AART ajusta automaticamente a mistura e tempos de retenção MRM
- Porta de Injeção Easy sTop reduz tempo inativo em manutenção
- Câmera de fonte de íons de abertura frontal torna a manutenção mais fácil

UFMS
ULTRA FAST MASS SPECTROMETRY





O que acontece nos laboratórios torna-se parte de nossas vidas.

Desenvolvimento de medicamentos inovadores que nos tornam mais saudáveis. Controle de Qualidade para os alimentos que comemos, as bebidas que bebemos e a água de que dependemos. Soluções para a segurança de plásticos, polímeros e materiais sintéticos que se tornam as roupas que vestimos, os brinquedos com que nossas crianças brincam. Diagnóstico precoce e tratamento de doenças. Padrões elevados para um ambiente mais limpo. Tudo isso começa com a tecnologia analítica da Waters – e a ciência do que é possível.

Para descobrir o que é possível em seu mundo, acesse: www.waters.com

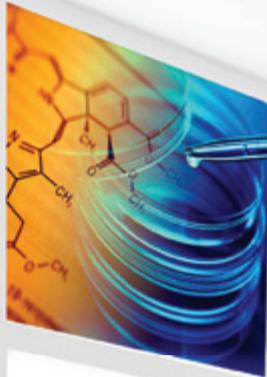
Waters

THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

Pharmaceutical & Life Sciences | Food | Environmental | Clinical | Chemical Materials

A **LAS do Brasil** está
no **SIMCRO 2014**
Venha nos visitar!


LAS do Brasil



USP
U.S. Pharmacopeial
Convention



Scharlau



JMC



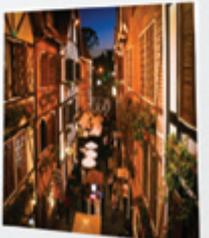

Agilent Technologies
Distribuidor Autorizado



BIO-GRADE



PGS
Purity Grade Standards



SIMCRO
Simpósio Brasileiro de Cromatografia e Técnicas Afins

 **LAS do Brasil**

Excelência em produtos
analíticos e laboratoriais

www.lasdobrasil.com.br

Atendimento personalizado e técnicos altamente qualificados

 **LAS do Brasil**

comercial@lasdobrasil.com.br

+55 62 3085-1900



Somos especializados na comercialização de consumíveis para Cromatografia Líquida e Gasosa, com diferentes soluções para análises cromatográficas.



QUALIDADE • EXPERIÊNCIA • SOLUÇÃO



Thermo
SCIENTIFIC



CHIRAL
TECHNOLOGIES INC.



RESTEK



Pickering
SCIENTIFIC



PICKERING
SCIENTIFIC

Confira nossos produtos: www.cromatec.com.br

JASCO BRASIL

**CONHEÇA O NOVO
APP PARA CÁLCULOS
DE CROMATOGRRAFIA**



Baixe grátis em seu Smartphone!
Disponível somente na Playstore



SIMCRO

A Jasco Brasil é responsável pelo fornecimento de instrumentos e consumíveis para Espectroscopia e Cromatografia.

Tema: Cromatografia supercrítica e suas aplicações em quiralidade

HPLC

Colunas para Cromatografia Líquida
feitas no Brasil 🇧🇷

Fases estacionárias:

C30, C18, C8, C6, C4, C1, Fenil, NH₂, Ciano, Sílica.

Comprimento:

Todos de 1cm até 30cm.

Diâmetro Interno:

4,6mm; 4,0mm; 3,9mm; 3,0mm; 2,1mm; 2,0mm; 1,0mm.

Partículas:

2µm; 3µm; 3,5µm; 4µm; 5µm; 10µm.

Especiais:

Outras dimensões e fases são produzidos sob consulta.



Entrega Rápida!

Por ser fabricante, a NST despacha suas
colunas tipicamente em até 5 dias.

XV Congreso Latinoamericano de Cromatografía y Técnicas Afines



COLACRO XV



7° COCOCRO

Cartagena de Indias - Colombia
Septiembre 29 - Octubre 3, 2014

COMITÉ CIENTÍFICO:

F.M. Lanças (Brasil) - Presidente
C. Cramers (Holanda) - Honorario
E.E. Stashenko (Colombia)
H. McNair (EE.UU.)
K. Jino (Japón)
L. Mondello (Italia)
P. Sandra (Bélgica)

TEMÁTICAS:

- Alimentos y bebidas
- Bioanalítica
- Innovación en sistemas de separación y detección
- Petroquímica y biocombustibles
- Productos naturales
- Química ambiental y química verde
- Química forense y aplicaciones clínicas

PATROCINADORES:



www.colacro2014.com

ORGANIZADORES:



Scientia Chromatographica

O Scientia Chromatographica abre oportunidade para pesquisadores de todo o Brasil publicarem seus trabalhos no periódico.

Como funciona:

1

Pesquisadores de todo o Brasil que trabalham na área de cromatografia podem submeter seus trabalhos.



2

O Corpo Editorial do Scientia analisará os trabalhos submetidos.



3

Os trabalhos aprovados serão publicados no Scientia.



Informações:

periodico@scientiachromatographica.com



Uma publicação do
INSTITUTO INTERNACIONAL DE CROMATOGRÁFIA
www.iicweb.org

SEÇÃO A | Avanços Recentes na Análise de Fármacos em Fluidos Biológicos

ADVANCES IN NEUROCHEMICAL PROFILING OF BRAIN TISSUE BY HPLC&NEW ELECTROCHEMICAL ARRAY DETECTOR

Bruce Bailey, Nicholas Santiago, Ian Acworth, Marc Yves Chalom

A1 | Quinta-feira | 04/09/14 2

AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DE ANTICOAGULANTES SOBRE MÉTODOS BIOANALÍTICOS PARA ESTUDOS FARMACOCINÉTICOS E DE BIODISPONIBILIDADE/BIOEQUIVALÊNCIA DE NAPROXENO SÓDICO E SUCCINATO DE SUMATRIPTANO

Juliana Machado Brêtas, Isabela da Costa César, Camila Machado Brêtas, Leonardo de Souza Teixeira, Gerson Antônio Pianetti

A2 | Quinta-feira | 04/09/14..... 3

AVALIAÇÃO DA BIOTRANSFORMAÇÃO QUIRAL DA VENLAFAXINA POR FUNGOS: MUDANÇAS NAS CONDIÇÕES DE CULTIVO

Marcela Armelino Bortoleto, Mariana Zuccherato Bocato, Anderson Rodrigo Moraes de Oliveira

A3 | Quinta-feira | 04/09/14..... 4

NEW STRATEGY FOR THE PURIFICATION OF HUMAN IMMUNOGLOBULIN M

Verinaud CI, Braga FC, Feliciano GP, Pinto JV, Raw I, Martins EAL, Cheng E

A4 | Quinta-feira | 04/09/14 5

DETERMINAÇÃO DE PARABENOS EM AMOSTRAS DE PLASMA POR MICROSPE(MIP)/UPLC-MS/MS

Mariane Valéria Roldão (IC), Lidervan P. Melo (PQ) e Maria Eugênia C. Queiroz (PQ)

A5 | Quinta-feira | 04/09/14..... 6

DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO SPE-LC-UV PARA QUANTIFICAÇÃO DE FIPRONIL EM PLASMA BOVINO

Thais P. Ferreira, Viviane S. Magalhães, Yara P. Cid, Rodrigo M. Oliveira, Geraldo A. Pereira, Fabio B. Scott

A6 | Quinta-feira | 04/09/14 7

MÉTODO BIOANALÍTICO PARA QUANTIFICAÇÃO SIMULTÂNEA DE EFAVIRENZ, LAMIVUDINA E TENOFOVIR EM PLASMA

Paula C. R. Enéas; Paula R. Chellini; Ricardo M. D. Byrro; Gerson A. Pianetti

A7 | Quinta-feira | 04/09/14..... 8

EMPREGO DE POLÍMEROS DE IMPRESSÃO MOLECULAR RESTRITOS À LIGAÇÃO COM MACROMOLÉCULAS PARA A EXTRAÇÃO

Katrine Kyona Muniz Sirgom, Eduardo Costa de Figueiredo

A8 | Quinta-feira | 04/09/14 9

SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE UM POLÍMERO MOLECULARMENTE IMPRESSO PARA DETERMINAÇÃO DE ENROFLOXACINO

Oliveira, H. L.; Silva, A. T. M.; Fonseca, M. C.; Silva, R. C. S.; Mano, V.; Figueiredo, E. C.; Borges, K. B.

A9 | Quinta-feira | 04/09/14 10

QUANTIFICAÇÃO DE PROPILTIOURACIL EM PLASMA HUMANO UTILIZANDO CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA ACOPLADA À ESPECTROMETRIA DE MASSAS EM TANDEM: APLICAÇÃO A UM ESTUDO DE BIOEQUIVALÊNCIA

Samara F. Bittencourt, Tainah Babadópulos, André Arruda, Gilberto De Nucci

A10 | Quinta-feira | 04/09/14 11

SEÇÃO B | Aplicações de Técnicas Cromatográficas e Afins em Análise Clínica Toxicológica

USO DE POLÍMEROS MIPS PARA DETERMINAÇÃO DE COCAÍNA EM MATRIZES COMPLEXAS VIA HPLC-DAD
Viviane do Nascimento Bianchi, Elizabete Campos de Lima

B1 | Quinta-feira | 04/09/14 13

PADRONIZAÇÃO DE UM MÉTODO PARA QUANTIFICAÇÃO DE ÁCIDO VALPRÓICO PLASMÁTICO POR HPLC
Costa, A. C., Joaquim H.P.G., Talib, L.L., Gattaz, W.F.

B2 | Quinta-feira | 04/09/14 14

VALIDAÇÃO DO MÉTODO BIOANALÍTICO DE XILAZINA E DETOMIDINA EM HPLC/MS

Borges, C. Martina; Pestana, C. Kelly; Peccinini, G. Rosângela

B3 | Quinta-feira | 04/09/14 15

DETERMINAÇÃO DA GENTAMICINA EM PLASMA E LÍQUIDO SINOVIAL POR LC-MS/MS

Pestana, K. C. ; Borges, M.C.; Peccinini, R. G.

B4 | Quinta-feira | 04/09/14 16

VALIDAÇÃO DE UM MÉTODO CROMATOGRÁFICO PARA QUANTIFICAÇÃO SIMULTÂNEA

Joaquim, H.P.G., Talib, L.L., Gattaz, W.F.

B5 | Quinta-feira | 04/09/14 17

DETERMINAÇÃO DE ABAMECTINA E IVERMECTINA POR HPLC/DAD EM INSUMOS E EM FORMULAÇÕES FARMACÊUTICAS

Teixeira, L. S.; Faria, W. D.; Dutra, F. V. A.; Pires, B. C.; Borges, K. B.

B6 | Quinta-feira | 04/09/14 18

CARACTERIZAÇÃO DE EMISSÕES VOLÁTEIS DE TINTAS IMOBILIÁRIAS EM BASE ÁGUA POR HS-SPME-GC/MS E PCA

D.A.V. Medina; L.M. Patinho; G.M. Titato; F.M. Lanças; A.J. Santos Neto

B7 | Quinta-feira | 04/09/14 19

NEW METHOD DEVELOPED FOR QUANTITATIVE ANALYSIS OF LOW TESTOSTERONE CONCENTRATIONS IN PLASMA

Kristine Van Natta, Marta Kozak, Angela De Pietro

B8 | Quinta-feira | 04/09/14 20

APLICAÇÃO DE EC-NCI-GC/MSMS PARA DOSAGEM DE PREGNENOLONA E 17-HIDROXIPREGNENOLONA EM SORO HUMANO

Thais Rodrigues Presutti; Karina Helena Morais Cardozo; Valdemir Melechco Carvalho

B9 | Quinta-feira | 04/09/14 21

HAPS EM SEDIMENTOS DA REGIÃO DO EMISSÁRIO SUBMARINO DE EFLUENTES DO DTSC - CANAL DE SÃO SEBASTIÃO/SP

Esperança Milanova Chaves, Karoline Riskalla Golfetto, Sílvio Miranda Prada e José Eduardo Bevilacqua

B10 | Quinta-feira | 04/09/14 22

DETERMINAÇÃO DE VOCS E SVOCS POR CG/MS EM SEDIMENTOS DA BAÍA DE LUANDA, ANGOLA Sílvia M. Prada, Eliana L.C. Aragão, José E. Bevilacqua, Karen C. de Oliveira B11 Quinta-feira 04/09/14.....	23
MÉTODO E SEPARAÇÃO ISOMÉRICA DA TIAZOLIDINODIONA LPSF/LYSO-07 POR UPLC E ESPECTROMETRIA DE MASSAS Elias Carvalho Padilha, Michel L de Campos, Adriel Martins, Álvaro Santos Neto, Ivan da Rocha Pitta, Rosângela Peccinini B12 Quinta-feira 04/09/14	24
A VERY SIMPLE AND FAST METHOD FOR QUANTIFICATION OF TEMOZOLOMIDE IN HUMAN PLASMA BY LC-MS/MS Pastre, K.I.F.; Galvinas, P.A.R.; Guimarães, C.L.; Araújo Jr., K.P.; Amorim, O.C.M; Watanabe, C.; Paoleschi, L.A.A. B13 Quinta-feira 04/09/14	25
SEÇÃO C Desenvolvimento de Métodos para Controle de Qualidade de Medicamentos Humanos e Veterinários	
DEVELOPMENT AND VALIDATION OF A METHOD TO DETERMINE THIOURSAL BY HPLC IN BIOLOGICAL PRODUCTS Nicolás A. Muñiz, Mónica E. Lammer, Graciela B. Torres, Maria Luisa Brero C1 Quinta-feira 04/09/14	27
ESTUDOS PRELIMINARES COM O EXTRATO DE PINUS PINASTER EMPREGANDO CLAE/DAD Almeida, P.A. de; Alves, M.C.; Ferreira, A. de O.; Raposo, N.R.B.; Brandão, M.A.F. C2 Quinta-feira 04/09/14	28
DETERMINAÇÃO SIMULTÂNEA DE TUBERCULOSTÁTICOS DE PRIMEIRA ESCOLHA EM FORMULAÇÃO FARMACÊUTICA POR CLAE Paula R. Chellini; Eduardo B. Lages; Isabela da C. César; Gerson A. Pianetti C3 Quinta-feira 04/09/14.....	29
PLANEJAMENTO RACIONAL EM CLAE: ANÁLISE DA CONVERSÃO DE N-ACILIDRAZIDAS EM N-ACILIDRAZONAS CINÂMICAS Soares, Marcio; Mazzei, José L.; Bandini, Thiago B.; Carvalho, Samir A.; da Silva, Edson F.; Fraga, Carlos A. M. C4 Quinta-feira 04/09/14.....	30
DESENVOLVIMENTO E OTIMIZAÇÃO DE MÉTODO ANALÍTICO PARA DETERMINAÇÃO DE SALBUTAMOL EM AEROSSOL Ana Carolina Guimarães Ribeiro, Taízia Dutra Silva, Cristina Duarte Vianna Soares C5 Quinta-feira 04/09/14.....	31
COMPARAÇÃO DE COLUNAS C18 NA SEPARAÇÃO DE TUBERCULOSTÁTICOS DE PRIMEIRA ESCOLHA POR CLAE-UV Pedro H.C. Franco; Paula R. Chellini; Isabela C. César; Gerson A. Pianetti C6 Quinta-feira 04/09/14.....	32
DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE MÉTODO ANALÍTICO POR CLAE PARA DOSEAMENTO DE PREDNISONA EM CÁPSULAS Pedro Henrique Reis da Silva, Paula Cristina Rezende Enéas, Gerson Antônio Pianetti C7 Quinta-feira 04/09/14	33

COMPARAÇÃO DE MÉTODOS POR CLAE-UV E EC-UV PARA DETERMINAÇÃO DE TUBERCULOSTÁTICOS DE PRIMEIRA ESCOLHA

Chellini, P. R.; Bastos, C. A.; César, I. C.; Oliveira, M. A. L.; Pianetti, G. A.

C8 | Quinta-feira | 04/09/14.....34

DETERMINAÇÃO DE CIPROFLOXACINO, ENROFLOXACINO E LIDOCAÍNA POR HPLC/DAD

Anacleto, S. S.; Borges, K. B.

C9 | Quinta-feira | 04/09/14.....35

CUANTIFICACIÓN DE LOS CONTRAIONES ACETATO Y TRIFLUORACETATO EN MUESTRAS DE PÉPTIDOS SINTÉTICOS

Mailyn La O González, Galina Moya Fajardo, Jorge L. López Reconde, Isabel Rey Montelongo, Hilda Garay Pérez, Osvaldo Rey

C10 | Quinta-feira | 04/09/1436

VALIDACIÓN DEL RP-HPLC PARA LA IFA Y EL PF DEL PÉPTIDO CIGB-300

Mailyn La O González, Galina Moya Fajardo, Jorge L. López Reconde, Isabel Rey Montelongo

C11 | Quinta-feira | 04/09/1437

SIMULTANEOUS DETERMINATION OF CLOTRIMAZOLE, KETOCONAZOLE AND DEXAMETHASONE BY ULTRA FAST LIQUID CHROMATOGRAPHY

Lílian Grace da Silva Solon, Gessiane Ferreira Germano, Monique Gomes Dantas, Igor Prado de Barros Lima, Cícero Flávio Soares Aragão

C12 | Quinta-feira | 04/09/14.....38

EVALUATION OF THE COAGULATION FACTOR XI PRESENCE IN INTRAVENOUS IMMUNOGLOBULIN G PREPARATIONS

Pinto JV, Cheng E, Nakajima E, Verinaud CI, Raw I, Martins EAL

C13 | Quinta-feira | 04/09/1439

DETERMINATION OF SUMA SUPERSOL[®] RESIDUE BY LC-MS/MS - APPLICATION FOR CLEANING VALIDATION PROCESS

Pastre, K.I.F.; Galvinas, P.A.R.; Guimarães, C.L.; Silva, W.M.; Schramm, S.G.; Silva Neto A.A.S.; Armando, Y.P.

C14 | Quinta-feira | 04/09/1440

LIQUID CHROMATOGRAPHY METHODS FOR THE ANALYSIS OF FILGRASTIM IN BIOTECHNOLOGY-DERIVED MEDICINES

Silva, F. S.; Schramm, V. G.; Souto, R. B.; Freitas, G. W.; Cardoso Jr., C. D. A.; Xavier, B.; Dalmora, S. L.

C15 | Quinta-feira | 04/09/1441

REVERSED-PHASE LIQUID CHROMATOGRAPHY METHOD FOR THE ANALYSIS OF BOTULINUM TOXIN

Freitas, G. W.; Perobelli, R. F.; Pinto, M. A.; Schramm, V. G.; Stamm, F. P., Dalmora, S. L.

C16 | Quinta-feira | 04/09/1442

DEVELOPMENT AND VALIDATION OF A STABILITY-INDICATING LC METHOD FOR THE ANALYSIS OF RIVAROXABAN

Walter, M. E.; Pinto, M. A., Cardoso Jr, C. D. A.; Xavier, B.; Stamm, F. P.; Dalmora, S. L.

C17 | Quinta-feira | 04/09/14.....43

SEÇÃO D | Produtos de Degradação e Impurezas em Produtos Farmacêuticos

DEGRADAÇÃO FORÇADA EM MEIO ÁCIDO PARA FÁRMACOS TUBERCULOSTÁTICOS E COMPRIMIDO EM DOSE FIXA COMBINADA

Rachel L. M. Freire, Naialy F. A. Reis, Cristina D. V. Soares, Christian Fernandes, Gérson A. Pianetti

D1 | Quinta-feira | 04/09/1445

TESTES DE DEGRADAÇÃO FORÇADA E DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO INDICADOR DE ESTABILIDADE PARA NEVIRAPINA

Jéssica C. Assis, Naialy F. A. Reis, Silvia L. Fialho, Gerson A. Pianetti, Christian Fernandes

D2 | Quinta-feira | 04/09/14..... 46

INFLUÊNCIA DO IFA NAS IMPUREZAS DE RIVASTIGMINA CÁPSULA ANALISADAS POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA (CLAE)

Mara Fernandes Ribeiro; Aline Rocha; Iara Coutinho Desmarais

D3 | Quinta-feira | 04/09/1447

GENERIC APPROACH FOR PHARMACEUTICAL DRUG DISCOVERY AND DEVELOPMENT USING RP HILIC WITH CAD

Frank Steiner, Michael Heidorn, Markus M. Martin, Marc Yves Chalom, Rodrigo de Sousa Leite

D4 | Quinta-feira | 04/09/1448

AVALIAÇÃO DOS INTERMEDIÁRIOS DA SULFAMETAZINA FORMADOS POR FOTÓLISE EM ÁGUA E EM ESGOTO SINTÉTICO

Tanare C.R. Ferreira; Amanda H. Imamura; Leonardo P. Medinilha; Fernando M. Lanças; Alvaro J. Santos-Neto

D5 | Quinta-feira | 04/09/1449

ESTUDO DE DEGRADAÇÃO FORÇADA DA INSULINA HUMANA UTILIZANDO A TÉCNICA ESI-MS

Ana Paula Borgo; Phellipe Honório Amaral; Marcos Nogueira Eberlin, Nelci Fenalt Höehr

D6 | Quinta-feira | 04/09/1450

ESTUDO DE DEGRADAÇÃO FORÇADA DE RIFAMPICINA, EM CÁPSULAS, ASSOCIADAS A ISONIAZIDA POR HPLC-DAD

Artur S. Oliveira, Dayanne L. Porto, Marcelo P. Amorim, Carlos J. Lima

D7 | Quinta-feira | 04/09/14..... 51

DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE MÉTODO ANALÍTICO POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ULTRAPERFORMANCE PARA A DETERMINAÇÃO DE ANTI-HIPERTENSIVOS

Claudia Vilela de Oliveira, Adriano Peron, Erika Rosa Maria Kedor-Hackmann, Maria Inês Rocha Miritello Santoro, María Segunda Aurora-Prado

D8 | Quinta-feira | 04/09/14 52

SEÇÃO E | Análise de Compostos Voláteis, Aromas, Fragrâncias, Óleos Essenciais

INFLUÊNCIA DO ESTÁDIO DE MATURAÇÃO E DO TEMPO DE ESTOCAGEM NO PERFIL DE VOLÁTEIS DA BUTIA CAPITATA

Maria Clara S. Aguiar, Flaviano O. Silvério, Gevany P. Pinho, Paulo S. N. Lopes, Paulo H. Fidêncio, Sílvia J. Ventura

E1 | Quinta-feira | 04/09/14.....54

COMPOSIÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE INFLORECÊNCIAS DE *CYMBOPOGON DENSIFLORUS* CULTIVADO NO BRASIL

Villela, P.; Silveira, J. V. W.; Pinto N. A. V. D; Canuto M. H.; Bogusz, S.

E2 | Quinta-feira | 04/09/14 55

COMPOSTOS VOLÁTEIS DE *BAUHINIA FORFICATA* L.

Duó - Bartolomeu, A. C.; Fiori, G.M.L.; Bastos, D.V.; França, S. de C.; Pereira, A.M.S.; Taleb - Contini, S. H.

E3 | Quinta-feira | 04/09/14 56

VALIDAÇÃO DE MÉTODO PARA ANÁLISE DE 2-FURFURILTIOIOL, TIOFENO E DIMETIL DISSULFETO POR CG-QEM

Thaís M. Uekane, Maria Helena Miguez da Rocha Leão e Claudia M. Rezende

E4 | Quinta-feira | 04/09/14 57

PERFIL CROMATOGRÁFICO DE FRUTAS EXÓTICAS ENCONTRADAS NO BRASIL POR CG-QEM

Luis Felipe A.G. Silva, Thaís M. Uekane e Claudia M. Rezende

E5 | Quinta-feira | 04/09/14 58

COMPOSIÇÃO VOLÁTIL DAS FLORES DE *COUROUPITA GUIANENSIS* OBTIDA POR HEADSPACE DINÂMICO IN SITU

Silva, R. F.; Rezende, C. M; Bizzo, H. R.

E6 | Quinta-feira | 04/09/14 59

CHEMICAL EVALUATION OF THE ESSENTIAL OIL OF *ALPINIA ZERUMBET* VARIETIES

Thamires de A. de Souza, Aline A. Mpalantinos; Ana C. F. Amaral; Aline de S. Ramos; José L. P. Ferreira, Jefferson R. de A. Silva

E7 | Quinta-feira | 04/09/14 60

COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *OCIMUM SELLOI* INCORPORADO EM DIETAS ARTIFICIAIS OFERTADAS A *SPODOPTERA FRUGIPERDA*

Claubert Wagner Guimarães de Menezes, Geraldo Andrade Carvalho, Joyce Pereira Alvarenga, Ellison Rosario de Oliveira, José Eduardo Brasil Pereira Pinto, Suzan Kelly Vilela Bertolucci

E8 | Quinta-feira | 04/09/14 61

ESTUDO COMPARATIVO DA CARACTERIZAÇÃO DA *ILEX PARAGUARIENSIS* UTILIZANDO GC E GCXGC

Jennifer Unfer do Carmo, Enelise E. Scapin, Mateus S. Salvador, Leidimara Pelisson, Rosângela A. Jacques, Elina B. Caramão

E9 | Quinta-feira | 04/09/14 62

EFEITO DA COMPOSIÇÃO FÍSICO-QUÍMICA NA FRAÇÃO VOLÁTIL DA POLPA DE *BUTIA ODORATA*

Tassiane dos Santos Ferrão¹; Daniele de Freitas Ferreira¹; Roger Wagner¹

E10 | Quinta-feira | 04/09/14 63

CROMATOGRAFIA CONTRACORRENTE: UMA TÉCNICA EFICIENTE NO ISOLAMENTO DE METABÓLITOS DE *EUGENIA UNIFLORA*

Victor Hugo Aquino, André M. Marques, Maria Raquel Figueiredo, Maria Auxiliadora C. Kaplan

E11 | Quinta-feira | 04/09/14 64

ESTUDO DO PERFIL CROMOTOGRÁFICO DOS VOLÁTEIS DE ESPÉCIES DE PIPER EMPREGADAS PARA O PREPARO DE CHÁS Anai L. dos Santos; Allan Polidoro; Michele E. da Cunha; Jaderson, K. Schneider; Valéria. F. Peres; Elina B. Caramão E12 Quinta-feira 04/09/14.....	65
CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE LIPPIA ORIGANOIDES H.B.K Simone Teles, Franceli da Silva, Angélica Maria Lucchese, Lenaldo Muniz de Oliveira E13 Quinta-feira 04/09/14.....	66
CARACTERIZAÇÃO DO PERFIL AROMÁTICO DE VINHOS TROPICAIS ELABORADOS A PARTIR DE UVAS ARINTO E FERNÃO PIRES NO NORDESTE DO BRASIL Veríssimo, C. M.; Pereira, G. E.; Rezende, C. M. E14 Quinta-feira 04/09/14	67
CARACTERIZAÇÃO DA COMPOSIÇÃO VOLÁTIL NO FRUTO AWAYMANTO (PHYSALIS PERUVIANA L) EMPREGANDO HS-SPME-CG Ausberta J. C. Garcia, Gerby Giovanna Rondán Sanabria, Emerson Bezerra Fontes, Suyare Araújo Ramalho, Narendra Narain E15 Quinta-feira 04/09/14.....	68
EFEITO DAS ETAPAS DE VINIFICAÇÃO NO PERFIL DE COMPOSTOS VOLÁTEIS DO ESPUMANTE MOSCATEL Rafael Dutra Soares, Juliane Elisa Welke, Karine Primieri Nicolli, Vitor Manfroi, Cláudia Alcaraz Zini E16 Quinta-feira 04/09/14	69
DIFERENCIAÇÃO ENTRE ESPUMANTES MOSCATÉIS PROVENIENTES DE DUAS VARIEDADES DE UVA MOSCATO Karine Primieri Nicolli, Juliane Elisa Welke, Vitor Manfroi, Claudia Alcaraz Zini E17 Quinta-feira 04/09/14.....	70
AVALIAÇÃO QUANTITATIVA DOS COMPOSTOS VOLÁTEIS DE VINHOS ANALISADOS ATRAVÉS DA GC×GC Juliane Elisa Welke, Mauro Zanus, Marcelo Lazzarotto, Francieli Martins Mayer, Claudia Alcaraz Zini E18 Quinta-feira 04/09/14	71
VOLÁTEIS CARACTERÍSTICOS DA SEGUNDA FERMENTAÇÃO DE ESPUMANTES ANALISADOS ATRAVÉS DA GC×GC Juliane Elisa Welke, Mauro Zanus, Marcelo Lazzarotto, Claudia Alcaraz Zini E19 Quinta-feira 04/09/14	72
ANÁLISE DA COMPOSIÇÃO VOLÁTIL DE FRUTAS DA AMAZÔNIA PELA TÉCNICA SPME Cavalcanti, R. G.; Silva, R. F.; Tsukui, A.; Rezende, C. M. E20 Quinta-feira 04/09/14	73
CARACTERIZAÇÃO PRELIMINAR DO PERFIL VOLÁTIL DE VINHOS “SYRAH” DA REGIÃO DO VALE DO SÃO FRANCISCO Janaina Barbará, Aline Biasoto, Karine Nicolli, L. Natividade, Elina Caramão, Francieli Mayer, Juliane Welke, Cláudia Zini E21 Quinta-feira 04/09/14.....	74

EXTRAÇÃO E IDENTIFICAÇÃO DE FITOALEXINAS EM LARANJEIRA PÊRA COM CANCRO CÍTRICO POR HS-SPME/GC-MS

Edenilson dos S. Niculau, Maria Fátima das G. F. da Silva, Leonardo Toffano, Marcos A. Machado, João B. Fernandes

E22 | Quinta-feira | 04/09/14 75

ANÁLISE DO ÓLEO ESSENCIAL DO ANIS ESTRELADO POR CG-CG/MS E POR CG-MS/MS

Keila dos Santos Cople Lima, Marcelo Carneiro dos Santos, Antonio Luís dos Santos Lima

E23 | Quinta-feira | 04/09/14 76

ANÁLISE DO ÓLEO ESSENCIAL DA NOZ MOSCADA POR CROMATOGRAFIA GASOSA BIDIMENSIONAL E ESPECTROMETRIA DE MASSAS COM DETECTOR TRIPLO QUADRUPOLO

Antonio Luís dos Santos Lima, Marcelo Carneiro dos Santos, Keila dos Santos Cople Lima

E24 | Quinta-feira | 04/09/14 77

COMPARAÇÃO ENTRE CG-CG/MS E CG-MS/MS COMO MÉTODOS DE ANÁLISE DO ÓLEO ESSENCIAL DA PIMENTA DO REINO

Marcelo Carneiro dos Santos, Keila dos Santos Cople Lima, Antonio Luís dos Santos Lima

E25 | Quinta-feira | 04/09/14 78

AVALIAÇÃO QUANTITATIVA DOS COMPOSTOS VOLÁTEIS DE VINHOS ANALISADOS ATRAVÉS DA GC×GC

Juliane Elisa Welke, Mauro Zanus, Marcelo Lazzarotto, Francieli Martins Mayer, Claudia Alcaraz Zini

E26 | Quinta-feira | 04/09/14 79

SEÇÃO F | Acoplamento Cromatografia-MS

EXTRAÇÃO SÓLIDO-LÍQUIDO PARA ANÁLISE DE GLIFOSATO E AMPA EM AMOSTRAS DE EUCALIPTO POR CG-EM E CG-DNF

Tereza C. P. G. Catrinck, Maria Clara S. Aguiar, Amanda Dias, Flaviano O. Silvério, Paulo H. Fidêncio, Gevany P. Pinho

F1 | Quinta-feira | 04/09/14 81

PURIFICATION OF HUMAN PLASMA PROTEINS BY PSEUDO-AFFINITY CHROMATOGRAPHY

Feliciano GP, Verinaud CI, Braga FC, Raw I, Martins EAL, Cheng E, Bemquerer MP

F2 | Quinta-feira | 04/09/14 82

NOVA TECNOLOGIA PARA ECONOMIZAR HÉLIO EMPREGADO NA CROMATOGRAFIA EM FASE GASOSA

A. Caruso, M. Santoro, P. Magni, S. Pelagatti, R. Facchetti, Henrique F. Melo

F3 | Quinta-feira | 04/09/14 83

DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA PARA DETERMINAÇÃO DE BTEX EM ÁGUA E CERTIFICAÇÃO DE MRC

Elaine B. Santana (PG), Lucas J. de Carvalho (PG), Eliane C. P. do Rego (PQ)

F4 | Quinta-feira | 04/09/14 84

DETERMINAÇÃO DE ANTI-INFLAMATÓRIOS E CAFÉINA EM CORPOS HÍDRICOS DO RIO DE JANEIRO POR LC-ESI-MS

Natália G. Figueiredo, Luths R. de O. Geaquinto, Karla P. M Licon, Lídia Yokoyama, Simone C. Chiapetta

F5 | Quinta-feira | 04/09/14 85

EFFECTS OF GAMMA RADIATION ON METHANOLIC EXTRACT OF CASTOR BEANS SEEDS Sousa, R. B.; Vital, H.C.; Lima, K.S.C.; Lima, A.L. F6 Quinta-feira 04/09/14.....	86
SELECTROSPRAY-TANDEM MASS SPECTROMETRY FINGERPRINT OF FERMENTED JABUTICABA DRINK Douglas de Andrade, Diogo Miranda, Helio A. Martins-Junior F7 Quinta-feira 04/09/14	87
EMPREGO DA TÉCNICA HIFENADA DE LC-ICP-MS NA SEPARAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE ESPÉCIES DE SELÊNIO Adriano Peron, Fabio Silva, Marcelo Morgano, Raquel Milani, Alexandre Souza F8 Quinta-feira 04/09/14.....	88
ANÁLISES DE OXIDAÇÃO DE TRIAZINAS VIA CROMATOLOGRAFIA GASOSA/ESPECTROMETRIA DE MASSAS Kelly A. Ribeiro Tagliaferro, Maria A. Braga de Oliveira, Maria A. Carvalho de Medeiros F9 Quinta-feira 04/09/14.....	89
DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIA ANALÍTICA PARA DETECÇÃO DE FRAUDE EM CAFÉ POR UPLC-QTOF Passos, C.P.; Santiago, M.C.P.A.; Pacheco, S.; Nascimento, L.S.M.; Gouvea, A.C.M.S.; Borguini, R.G.; Godoy, R.L.O. F10 Quinta-feira 04/09/14	90
SEÇÃO G Cromatografia Gasosa Multidimensional Comprehensive	
ESTUDO DO NÍVEL DE BIODEGRADAÇÃO POR GCXGC DE ÓLEOS DA BACIA DE CAMPOS-RJ Paloma Santana Prata, Noroska Gabriela Salazar Mogollón, Fabio Augusto G1 Quinta-feira 04/09/14	92
HS-SPME E GCXGC NA AVALIAÇÃO DA EVOLUÇÃO DO PERFIL VOLÁTIL DO PROCESSAMENTO DO CHOCOLATE Soraia C. G. N. Braga, Luciana F. Oliveira, Jadson Reis, Juliana C. Hashimoto, Ronei J. Poppi, Fabio Augusto G2 Quinta-feira 04/09/14.....	93
SPME E GCXGC PARA AVALIAÇÃO DE NIBS DE CACAU DE DIFERENTES REGIÕES UTILIZANDO MÉTODOS QUIMIOMÉTRICOS Soraia C. G. N. Braga, Luciana F. Oliveira, Ronei J. Poppi, Fabio Augusto G3 Quinta-feira 04/09/14.....	94
TUNING THE SELECTIVITY OF IONIC LIQUID STATIONARY PHASES FOR MULTIDIMENSIONAL GAS CHROMATOGRAPHY Leandro W. Hantao, Ali Najafi, Cheng Zhang, Fabio Augusto, Jared L. Anderson G4 Quinta-feira 04/09/14	95
APLICAÇÃO DE GCXGC-QMS NO ESTUDO DE METABÓLITOS VOLÁTEIS DE FUNGOS INIBIDORES DE FITOPATÓGENOS Mayra Fontes Furlan, Paula Feliciano de Lima, Fabiana A. L. Ribeiro, Sérgio Florentino Pascholati, Fabio Augusto G5 Quinta-feira 04/09/14.....	96



ESTUDO DE PARÂMETROS ANALÍTICOS PARA QUANTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS-TRAÇO DE PETRÓLEO POR GC×GC-TOFMS

Vinícius Barreto Pereira, Bárbara M. F. Ávila, Alexandre O. Gomes, Débora A. Azevedo

G6 | Quinta-feira | 04/09/1497

CARACTERIZAÇÃO DE BIO-ÓLEOS DE PIRÓLISE CATALÍTICA POR CROMATOGRAFIA BIDIMENSIONAL ABRANGENTE

Nathalia S. Tessarolo, Alessandro Casilli, Andrea Pinho, Débora A. Azevedo

G7 | Quinta-feira | 04/09/14..... 98

GC×GC-TOFMS NA INVESTIGAÇÃO DE NOVOS COMPOSTOS EM ÓLEOS BRASILEIROS

Jaakko Laakia, Bruno Q. Araújo, Alessandro Casilli, Maria Regina B. Loureiro, Débora A. Azevedo, Francisco R. Aquino Neto

G8 | Quinta-feira | 04/09/14 99

PTV-GC×GC-TOFMS: UMA PROMISSORA TÉCNICA PARA ANÁLISE DE BIOMARCADORES PESADOS EM ÓLEOS BRASILEIROS

Paula L. Azevedo, Alessandro Casilli, Débora A. Azevedo

G9 | Quinta-feira | 04/09/14 100

SEPARAÇÃO DE COMPOSTOS SULFURADOS DE PETRÓLEO UTILIZANDO LEC-GC×GC/TOFMS EMPREGANDO NOVA FASE SÓLIDA

TR Bjerck, EV Benvenuto, EB Caramão, CA Zini

G10 | Quinta-feira | 04/09/14 101

SEÇÃO H | Resíduos e Contaminantes em Alimentos

DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE AMINOGLICOSÍDEOS EM CARNE BOVINA POR LC-MS/MS

Andréia Peraro-Nascimento, Carlos Eduardo D. Nazário, Fernando M. Lanças

H1 | Sexta-feira | 05/09/14 103

DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE TETRACICLINAS EM CARNE BOVINA POR LC-MS/MS

Andréia Peraro-Nascimento, Carlos Eduardo D. Nazário, Fernando M. Lanças

H2 | Sexta-feira | 05/09/14..... 104

DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE PESTICIDAS EM SUCOS DE UVA INTEGRAIS BRASILEIROS USANDO CG-EM-MSI

Andréa A.R. Alves, Aline S. Rodrigues, Elisabete B. Paula Barros, Thaís M. Uekane, Humberto R. Bizzo, Claudia M. Rezende

H3 | Sexta-feira | 05/09/14 105

VARIABILIDADE DO GOSSIPOL LIVRE

Romero, A.C.; Abdalla, A.L.; Louvandini, H.; Nazato, C.

H4 | Sexta-feira | 05/09/14 106

HPAS EM GRÃOS DE ARROZ BENEFICIADOS COM DIFERENTES PROCESSOS E SECOS COM DIFERENTES COMBUSTÍVEIS

Sergiane Souza Caldas, Jean Lucas de O. Arias, Caroline Rombaldi, Eliana Badiale Furlong, Ednei Gilberto Primel

H5 | Sexta-feira | 05/09/14 107

COMPOSIÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS EM FÍGADO DE TILÁPIA DO NILO CULTIVADA NO BREJO PARAIBANO Alison B. B. de Sousa, Neiva M. de Almeida, Pedro G. A. Nunes, Oscar O. dos Santos Júnior, Jesuí V. Visentainer H6 Sexta-feira 05/09/14 108	108
AVALIAÇÃO DA ÁGUA-DE-COCO E ALBÚMEN SÓLIDO NA DETERMINAÇÃO DE AGROTÓXICOS POR QUECHERS E UHPLCMS/MS J.A. Ferreira, J.F.Facco, T.M. Rizzetti, O.D. Prestes, R. Zanella, V. Talamini, J. M. S. Ferreira, C. B. G. Bottoli H7 Sexta-feira 05/09/14 109	109
VALIDAÇÃO DE MÉTODO MULTIRRESÍDUO PARA DETERMINAÇÃO DE PESTICIDAS EM MEL POR LC-MS/MS Patricia Tette, Christian Fernandes, Fabiano Oliveira, Elba Pereira, Gilsara Silva, Maria Beatriz de Abreu Glória H8 Sexta-feira 05/09/14 110	110
DETERMINAÇÃO DE FIPRONIL POR HPLC/DAD EMPREGANDO A MICROEXTRAÇÃO LÍQUIDO-LÍQUIDO DISPERSIVA (DLLME) Faria, W. D.; Anacleto, S. S.; Teixeira, L.S.; Borges, K. B. H9 Sexta-feira 05/09/14 111	111
AVALIAÇÃO QUALITATIVA DE EFEITO DE MATRIZ NA DETERMINAÇÃO DE ANTIBIÓTICOS EM FÍGADO DE FRANGOS Vanessa Gass da Silveira; Tibiriçá Gonçalves Vasconcelos; Raquel Durand Coelho; Carlos Augusto Mallmann H10 Sexta-feira 05/09/14 112	112
COMPARAÇÃO DE PROCEDIMENTOS DE EXTRAÇÃO PARA ANÁLISE DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM CENOURA POR GC-MS Juliana L. S. Batista (PG), Laís S. dos Santos (IC), Nicolas Schmidt (IC), Márcia H. S. Kurz(PQ), Fábio F. Gonçalves (PQ) H11 Sexta-feira 05/09/14 113	113
MULTIRRESÍDUO EMPREGANDO UPLC-MS/MS E GC-MS/MS PARA DETERMINAÇÃO DE AGROTÓXICOS EM CEBOLA Débora Renata C. de Souza, Maria Aparecida Rosa, Vera Lúcia Ferracini, Paula Tereza de S. e Silva H12 Sexta-feira 05/09/14 114	114
INCERTEZA DE UM MÉTODO MULTIRRESÍDUO DE PESTICIDAS EM MORANGO POR CG-MS/MS Débora R. C. de Souza, Vera L. Ferracini, Sonia C. N. Queiroz H13 Sexta-feira 05/09/14 115	115
DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO QUECHERS PARA A DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE SULFONAMIDAS EM LEITE UHT Santos, J.R.M.P.; Monteiro, M.A.; Spisso, B.F.; Costa, R.P.; Ferreira, R.G.;Pereira, M.U.; Melo, J.M.C.; Oliveira, L.A.G. H14 Sexta-feira 05/09/14 116	116
EVALUATION OF THE STATE-OF-ART OF THE USE OF CHROMATOGRAPHIC TECHNIQUES IN OCHRATOXIN A ANALYSIS IN BEER AND WINE Mariane Aissa Andrade, Fernando Mauro Lanças H15 Sexta-feira 05/09/14 117	117

INCREASING EXTRACTION EFFICIENCY OF PESTICIDES AND DIOXINS FROM WET SAMPLES BY A NOVEL POLYMER-ASE

Katerina Bousova, Pranathi Perati, Rahmat Ullah, Kannan Srinivasan, Marc Yves Chalom, Sanderson Souza
H16 | Sexta-feira | 05/09/14 118

QUECHERS E LC-MS QTOF NA IDENTIFICAÇÃO POR VARREDURA DE CONTAMINANTES EMERGENTES EM FILÉ DE PEIXE

Juliana S. Munaretto, Osmar D. Prestes, Marília M. May, Nathália Saibt, Martha B. Adaime e Renato Zanella
H17 | Sexta-feira | 05/09/14 119

DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE AVERMECTINAS EM LEITE BOVINO E BUBALINO EMPREGANDO QUECHERS E UHPLCMS/MS

Lucila C. Ribeiro, Nelson M. Bandeira, Luana Floriano, Tieli Rizzeti, Osmar D. Prestes, Renato Zanella, Martha B. Adaime
H18 | Sexta-feira | 05/09/14 120

MÉTODO MULTIRRESÍDUO PARA DETERMINAÇÃO DE 73 AGROTÓXICOS EM VINHO POR UHPLC-MS/MS

Gabrieli Bernardi, Luana Berwaldt, Martha B. Adaime, Osmar D. Prestes, Renato Zanella
H19 | Sexta-feira | 05/09/14 121

DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO RÁPIDO PARA A DETERMINAÇÃO DE NATAMICINA EM VINHO E SUCO DE UVA

Gabrieli Bernardi, Tiele M. Rizzetti, Martha B. Adaime, Renato Zanella, Osmar D. Prestes
H20 | Sexta-feira | 05/09/14 122

DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM ARROZ EMPREGANDO SLE/LTP E GC-MS/MS TRIPLO QUADRUPOLO

Luana Floriano, Lucila C. Ribeiro, Débora Orso, Gabriel Capeletto, Osmar D. Prestes, Martha B. Adaime, Renato Zanella
H21 | Sexta-feira | 05/09/14 123

DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM SUCO DE MIRTILO POR GC-MS/MS

Natalia C. Muñoz, Lucila C. Ribeiro, Luana Floriano, Marisa Demarco, Osmar D. Prestes, Renato Zanella, Martha B. Adaime
H22 | Sexta-feira | 05/09/14 124

COMPARAÇÃO DE DIFERENTES SORVENTES NA REMOÇÃO DE GORDURA DURANTE ETAPA DE D-SPE NO MÉTODO QUECHERS

Nelson M. G. Bandeira, Pimperelli J. dos Santos, Manoel L. Martins, Martha B. Adaime, Renato Zanella, Osmar D. Prestes
H23 | Sexta-feira | 05/09/14 125

MÉTODO MULTIRRESÍDUO PARA DETERMINAÇÃO DE AGROTÓXICOS EM BEBIDAS À BASE DE SOJA POR UHPLC-MS/MS

Marília M. May, Luana Floriano, Osmar D. Prestes, Renato Zanella, Martha B. Adaime
H24 | Sexta-feira | 05/09/14 126

DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM MEL EMPREGANDO UHPLC-MS/MS

Débora Orso, Maiara P. de Souza, Osmar D. Prestes, Manoel L. Martins, Martha B. Adaime e Renato Zanella
H25 | Sexta-feira | 05/09/14 127

DETERMINAÇÃO MULTICLASSE DE RESÍDUOS DE MEDICAMENTOS VETERINÁRIOS EM RIM E FÍGADO BOVINO Tiele M. Rizzetti, Maiara P. de Souza, Osmar D. Prestes, Martha B. Adaime e Renato Zanella H26 Sexta-feira 05/09/14	128
MÉTODO RÁPIDO PARA DETERMINAÇÃO MULTIRRESÍDUO DE AGROTÓXICOS EM CERVEJA POR UHPLC-MS/MS Nelson M. G. Bandeira, Lucila C. Ribeiro, Manoel L. Martins, Martha B. Adaime, Renato Zanella, Osmar D. Prestes H27 Sexta-feira 05/09/14.....	129
DETERMINAÇÃO MULTICLASSE DE RESÍDUOS DE MEDICAMENTOS VETERINÁRIOS EM CARNE OVINA POR UHPLC-MS/MS Nelson M. G. Bandeira, Luana Floriano, Manoel L. Martins, Martha B. Adaime, Renato Zanella, Osmar D. Prestes H28 Sexta-feira 05/09/14	130
AVALIAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE UM POLÍMERO MOLECULARMENTE IMPRESSO PARA DETERMINAÇÃO DE SULFUNILURÉIAS Felipe Nascimento Andrade, Álvaro José dos Santos Neto, Fernando Mauro Lanças H29 Sexta-feira 05/09/14	131
EXTRAÇÃO DE SAs EM LEITE POR SPE ON-LINE UTILIZANDO LÍQUIDOS IÔNICOS Meire Ribeiro da Silva, Álvaro J. dos Santos Neto, Fernando M. Lanças H30 Sexta-feira 05/09/14	132
ROOT CAUSE DETERMINATION OF MATRIX EFFECTS IN LC/HRMS ESI James Chang, Ph.D., Paul Yang, Ph.D. H31 Sexta-feira 05/09/14	133
MICRO FLOW LC AND ITS APPLICATION ON FOOD SAFETY ANALYSIS James Chang, Ph.D. H32 Sexta-feira 05/09/14.....	134
AUTOMATION OF GPC, SPE AND QUECHERS SEPARATION OF CONTAMINANTS IN FOOD Stevens J., Crawford M., Halvorson M., Kowalski J., Misselwitz M., Fecho R. H33 Sexta-feira 05/09/14.....	135
THE USE OF HIGH-DEFINITION TD-GC-TOF MS FOR CHALLENGING ANALYSES IN THE FOOD INDUSTRY L. McGregor, N. Bukowski, B. Green, L. Pollack, P. Morris, M. Bates and J. César H34 Sexta-feira 05/09/14	136
MÉTODO MULTIRRESÍDUO PARA DETERMINAÇÃO DE AGROTÓXICOS EM UVA EMPREGANDO UHPLC-MS/MS Mariele M. Mann, Lucila C. Ribeiro, Danieli D. Bandeira, Eduardo P. Nunes, Osmar Prestes, Renato Zanella, Martha B. Adaime H35 Sexta-feira 05/09/14	137

USE OF TRIPLE QUADRUPOLE GC-MS/MS AS A CONFIRMATORY METHOD FOR PCDD/FS IN FOOD AND FEED SAMPLES

Cristian Cojocariu, Manuela Abalos, Esteban Abad Holgado, Paul Silcock, Angela De Pietro

H36 | Sexta-feira | 05/09/14 138

ESTUDO DE VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA ANALÍTICA PARA ANÁLISE DE HPA EM CAFÉ

Luiz Severo Silva Junior, Carlos Francisco Pedroso e Carlos Ricardo Soccol

H37 | Sexta-feira | 05/09/14..... 139

ESTUDO COMPARATIVO DA ANÁLISE DE HISTAMINA EM PESCADO POR MEIO DO KIT E CROMATOGRAFIA LÍQUIDA

Warley Pinheiro Evangelista, Edineia Xavier de Souza, Maria Beatriz A. Glória

H38 | Sexta-feira | 05/09/14 140

APLICAÇÃO DE MÉTODO LC-MS/MS PARA ANÁLISE MULTIRRESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM ESPINAFRE

Fernanda Ribeiro Begnini, Isabel Cristina Sales Fontes Jardim

H39 | Sexta-feira | 05/09/14 141

SEÇÃO I | Produtos Naturais e Fitoterápicos

IDENTIFICATION OF CUCURBITACIN E METABOLITES IN RAT URINE BY MASS SPECTROMETRY

Fiori, G. M. L.; Pereira, M. P. M. ; Rocha, A.; Pereira, A. M. S. ; Lopes, N. P.

I1 | Sexta-feira | 05/09/14 143

POLIFENÓIS EM MICROCÁPSULAS DE EXTRATO DA TORTA DE CASTANHA-DO-BRASIL POR CLAE-EMAR/ESI-ORBITRAP

Gomes, S.; Pereira, H. M. G.; Sardela, V. F.; Finotelli, P. V.; Torres, A. G.

I2 | Sexta-feira | 05/09/14 144

ISOLAMENTO DE METABÓLITOS SECUNDÁRIOS MINORITÁRIOS DE FOLHAS DE TETRADENIA RIPARIA POR CCC

Fabiana de Souza Figueiredo; Mariana Ferreira da Silva; Gilda Guimarães Leitão

I3 | Sexta-feira | 05/09/14..... 145

PERFIL CROMATOGRÁFICO DE TRÊS ESPÉCIES DE RUBIACEAE: BATHYSA AUSTRALIS, B.STIPULATA E B.GYMNOCARPA

Tatiane dos Santos C. Carvalho; Wilmer H. Perera Córdova; Gilda Guimarães Leitão

I4 | Sexta-feira | 05/09/14..... 146

CARACTERIZAÇÃO DE SESQUITERPENOS DE SINNINGIA LEUCOTRICA (GESNERIACEAE) POR CG-MS

Maria Helena Verdan, Dilamara Riva Scharf, Maria Élide Alves Stefanello

I5 | Sexta-feira | 05/09/14..... 147

COMPARAÇÃO DOS PERFIS CROMATOGRÁFICOS DE SINNINGIA AGGREGATA E S. WARMINGII (GESNERIACEAE)

Maria Helena Verdan; Maria Élide Alves Stefanello

I6 | Sexta-feira | 05/09/14..... 148

CAPILLARY ELECTROPHORESIS ANALYSIS OF ASPIDOSPERMA ALKALOIDS

Ana C. F. Amaral; Arith R. Santos; Vinicius V. C. Nery; Maria Mpalantinos; Aline Ramos; José L. Ferreira, Jefferson R. A. Silva

I7 | Sexta-feira | 05/09/14..... 149

ISOLAMENTO DA CHOISYINA POR CCC DE EXTRATOS DE FOLHAS E GALHOS DE TRÊS ESPÉCIES DO GÊNERO CHOISYA João Paulo Barreto Pereira; Denise Roperero; Ikarastika Rayahu Wanab; Fabio Boylan; Gilda Guimarães Leitão 18 Sexta-feira 05/09/14.....	150
CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DE ANETHUM GRAVEOLENS POR GC/MS EM EXTRATOS ETANÓLICOS Victoria de M. Gonçalves; Caroline T. Rockembach; Marco A. Z. Santos; Rogério Antonio Freitag; Claudio M. P. de Pereira 19 Sexta-feira 05/09/14.....	151
ANALYSIS OF PHOSPHOLIPIDS IN NATURAL SAMPLES BY NP-HPLC AND CORONA CHARGED AEROSOL DETECTION Marc Plante, Bruce Bailey, Ian N. Acworth, Marc Yves Chalom, Rodrigo de Sousa Leite 110 Sexta-feira 05/09/14	152
AVALIAÇÃO DE DIFERENTES MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS EM GRÃOS DE CEVADA Bruno Molero da Silva, Carla Beatriz Grespan Bottoli 111 Sexta-feira 05/09/14	153
QUANTIFICAÇÃO DE CAFÉINA EM CAFÉ POR PADRONIZAÇÃO INTERNA Mendonça, J. F.; Provenzano, G. T.; Da Silva Jr., A. I. 112 Sexta-feira 05/09/14.....	154
CARACTERIZAÇÃO DE UM NOVO METABÓLITO DA PIPLARTINA POR CG-MS APÓS METABOLISMO MICROSSOMAL IN VITRO Fernanda L. Moreira, Ricardo Vessecchi, Lucas M. M. Marques, Norberto Peoporine Lopes, Anderson R. M. de Oliveira 113 Sexta-feira 05/09/14.....	155
ESTUDO METABOLÔMICO DE ESPÉCIES DO GÊNERO CASEARIA (SALICACEAE) UTILIZANDO MÉTODOS CROMATOGRÁFICOS Naira Buzzo Anhesine, Paula Carolina Pires Bueno, Alberto José Cavalheiro 114 Sexta-feira 05/09/14	156
DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO CROMATOGRÁFICO PARA QUANTIFICAÇÃO DE DEZ COMPOSTOS FENÓLICOS POR HPLC-DAD Gayer, M. C.; Rodrigues, D. T.; Denardin, E. L G.; Roehrs, R. 115 Sexta-feira 05/09/14.....	157
IDENTIFICAÇÃO DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS DE EXTRATOS E FRAÇÕES DE P. CITRINUM Caline Gomes Ferraz, Caroline Damasceno, Ana Cristina Fermino Soares, Frederico Guaré Cruz, Elisangela Fabiana Boffo 116 Sexta-feira 05/09/14	158
QUANTIFICAÇÃO DE LICOPENO POR CLAE EM SARDINHAS ENLATADAS COM MOLHO DE TOMATE Amanda M. D. Martins, Fabiano Oliveira, Sidney Pacheco, Ronel Luiz de Oliveira Godoy 117 Sexta-feira 05/09/14.....	159



IDENTIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE CAROTENOIDES POR CLAE-DAD EM POLPA DE CAMBOIM Luciana M. de Oliveira, Alexandre Porte, Ronoel Luiz de O. Godoy, Marcelo da C. Souza, Ana Cristina M. S. Gouvêa I18 Sexta-feira 05/09/14 160	160
IDENTIFICAÇÃO DE METABÓLITOS DE <i>Penicillium citrinum</i> E SUA AÇÃO NO CONTROLE DE <i>Aspergillus niger</i> Ana Cristina Fermino Soares, Caroline Lopes Damasceno, Caline Gomes Ferraz, Frederico Guará Cruz, Isley Fehlberg I19 Sexta-feira 05/09/14 161	161
MONITORAMENTO DOS GRÃOS DE CAFÉ VERDE (COFFEA ARABICA L.) BRASILEIRO Anna Tsukui; Ana Laura Macedo Brand; Claudia Moraes de Rezende I20 Sexta-feira 05/09/14..... 162	162
UTILIZAÇÃO DA CLAE PARA AVALIAÇÃO DA BIOACESSIBILIDADE DE ANTOCIANINAS DA CASCA DE JAMBO Peixoto, F.M.; Santiago, M.C.P.A.; Gouvêa, A.C.M.S.; Pacheco, S.; Nascimento, L.S.M.; Borguini, R.G.; Godoy, R.L.O. I21 Sexta-feira 05/09/14..... 163	163
CARACTERIZAÇÃO DE DIFERENTES EXTRATOS DE FOLHAS DE ALCACHOFRA (<i>Cynara scolymus</i> L.) OBTIDOS POR EXTRAÇÃO POR ULTRASSOM UTILIZANDO GC/qMS Allan S. Polidoro (PG), Caroline Saucier (PG), Jenniffer U. do Carmo (IC), Anai L. dos Santos (PG), Elina B. Caramão (PQ), Rosângela A. Jacques (PQ) I22 Sexta-feira 05/09/14 164	164
PRINCIPAIS DIFERENÇAS ENTRE FUNCHO E ANIS AVALIADAS ATRAVÉS DA GC×GC E QUIMIOMETRIA Juliane Welke, Flaviana Damasceno, Karine Nicolli, Lilian Mentz, Elina Caramão, Fernando Pulgati, Cláudia Zini I23 Sexta-feira 05/09/14 165	165
SEÇÃO J Green-Chemistry Meio Ambiente	
DETERMINAÇÃO DE HORMÔNIOS ESTRÓGENOS EM EFLUENTES VIA HPLC DAD Clovis Lucio da Silva, Viviane do Nascimento Bianchi, Elizabete Campos de Lima J1 Sexta-feira 05/09/14 167	167
DETERMINAÇÃO DE PPCPS E AGROTÓXICOS NA ÁGUA DO MUNICÍPIO DE RIO GRANDE/RS Antunielle Schneider, Caroline Rombaldi, Marcos E. G. Paulista, Jean L.O. Arias, Ayrton F. Martins, Ednei G. Primel J2 Sexta-feira 05/09/14 168	168
CARACTERIZAÇÃO DE FASES ESTACIONÁRIAS UTILIZANDO A CROMATOGRAFIA COM FLUIDO SUPERCRÍTICO Carla G. A. da Silva (PQ), Isabel C. S. Fontes Jardim e Carol H. Collins (PQ) J3 Sexta-feira 05/09/14 169	169
CARACTERIZAÇÃO DE SUBSTÂNCIAS VOLÁTEIS ORGÂNICAS EM SOLO COM DISTINTAS COBERTURAS VEGETAIS POR SPME Leonardo S. Pereira; Rafael F. Silva; Antonio J. T. Guerra; Claudia M. Rezende; Maria do Carmo O. Jorge J4 Sexta-feira 05/09/14 170	170

EXTRAÇÃO SÓLIDO-LÍQUIDO PARA ANÁLISE POR HPLC-DAD DE PESTICIDAS EM SOLO PARA FITORREMEDIAÇÃO Ramborger, B.P., Zago, M.L.C., Rosa, A.S., Denardin, E.L.G., Roehrs, R. J5 Sexta-feira 05/09/14	171
PHYTOREMEDIATION OF PESTICIDES IN WATER USING HYDROPONIC CULTIVATION OF LETTUCE Zago, M.L.C.; Rosa A.S; Ramborger, B.P.; Denardin, E.L.G.; Roehrs, R. J6 Sexta-feira 05/09/14	172
DETERMINAÇÃO DE GASES DE EFEITO ESTUFA COM SISTEMA AUTOMÁTICO DE INJEÇÃO E FORNO AUXILIAR Cristiane de Oliveira Silva, Henrique Franciscato Melo, Danilo Vinicius Pierone J7 Sexta-feira 05/09/14	173
MÉTODO RÁPIDO PARA DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE HERBICIDAS IMIDAZOLINONAS EM SOLO POR UHPLC-MS/MS Magali Kemmerich, Gabrieli Bernardi, Martha B. Adaime, Renato Zanella, Osmar D. Prestes J8 Sexta-feira 05/09/14	174
MÉTODO MULTIRESÍDUO PARA DETERMINAÇÃO DE AGROTÓXICO E POPS EM ÁGUA POR GC-MS/MS Mariela de Souza Viera, Giovana Ferronato, Osmar Damian Prestes, Martha Bohrer Adaime, Renato Zanella J9 Sexta-feira 05/09/14	175
DETERMINAÇÃO DE POPS EM LEITE MATERNO, EMPREGANDO MÉTODO QUECHERS E GC-NCI-MS Giovana Ferronato, Mariela de Souza Viera, Osmar D. Prestes, Martha B. Adaime, Renato Zanella J10 Sexta-feira 05/09/14	176
DETERMINAÇÃO DE BIFENILAS POLICLORADAS (PCBS) EM SEDIMENTO UTILIZANDO GC-MS/MS Maiara P. de Souza, Débora Orso, Gabrieli Bernardi, Osmar D. Prestes, Martha B. Adaime e Renato Zanella J11 Sexta-feira 05/09/14	177
AIR MONITORING - THE RESPECTIVE ADVANTAGES AND APPLICATIONS OF CANISTERS AND TUBES Chris Llewellyn, Nicola Watson and Danilo Pierone J12 Sexta-feira 05/09/14	178
DETERMINAÇÃO DE SULFONAMIDAS PRESENTES EM LODO DE ESGOTO UTILIZANDO QuEChERS E LC-TOF Maraíssa Silva Franco, Edvaldo Vasconcelos S. Maciel, Álvaro José dos Santos-Neto, Fernando Mauro Lanças J13 Sexta-feira 05/09/14	179
DETERMINAÇÃO MULTIRRESÍDUO DE AGROTÓXICOS E MEDICAMENTOS VETERINÁRIOS EM SOLO POR UHPLC-MS/MS Filipe F. Donato, Michele C. Vicari, Janice Facco, Manoel L. Martins, Osmar D. Prestes, Martha B. Adaime, Renato Zanella J14 Sexta-feira 05/09/14	180
AGROTÓXICOS E COMPOSTOS RELACIONADOS EM AR: TRAPEAMENTO EM SORVENTE POLIMÉRICO E USO DE GC-MS/MS Samile Martel, Filipe F. Donato, Janice F. Facco, Manoel L. Martins, Osmar D. Prestes, Martha B. Adaime, Renato Zanella J15 Sexta-feira 05/09/14	181

VALIDAÇÃO DE MÉTODO PARA DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE FÁRMACOS EM ÁGUA POR SPE E UHPLC-MS/MS

Nathália Saibt, Filipe F. Donato, Tiele M. Rizzetti, Débora Orso, Osmar D. Prestes, Martha B. Adaime, Renato Zanella

J16 | Sexta-feira | 05/09/14..... 182

INJEÇÃO DIRETA DA AMOSTRA EM ICC E LC-MS/MS PARA DETERMINAÇÃO DE GLIFOSATO E AMPA EM ÁGUA

Fábio da S. de Matos, Filipe F. Donato, Vagner M. Floss, Manuel L. Martins, Osmar D. Prestes, Renato Zanella

J17 | Sexta-feira | 05/09/14 183

MÉTODO PARA DETERMINAÇÃO DE NITROGÊNIO, HIDROGÊNIO, METANO E GÁS CARBÔNICO POR CG/DCT

Maria A. T. Adorno (PQ), Inês N. Tomita (PQ)

J18 | Sexta-feira | 05/09/14..... 184

IDENTIFICAÇÃO DE SUBPRODUTOS DE DEGRADAÇÃO DA ATRAZINA SUBMETIDA A PROCESSOS DE OXIDAÇÃO AVANÇADA

Bianca do Amaral, Caio Cardinali Rebouças, Noemi Nagata, Patricio G. Peralta-Zamora

J19 | Sexta-feira | 05/09/14..... 185

DETERMINAÇÃO CROMATOGRÁFICA DOS SUBPRODUTOS DA DEGRADAÇÃO DE FENOL POR PROCESSOS FENTON

Bianca do Amaral, Sandra Stets, Graziela da Silva Costa, Noemi Nagata, Patricio Peralta-Zamora

J20 | Sexta-feira | 05/09/14 186

AUTOMATED SPE FOR THE DETERMINATION OF CONTAMINANTS IN WATER ACCORDING TO REGULATORY REQUIREMENTS

Toni R. Hofhine, Noah Iskandarani, Ricardo Fechio

J21 | Sexta-feira | 05/09/14 187

ALTERNATIVE LOW COST GC METHOD TO DETERMINATION OF POLYOL HUMECTANTS IN TOBACCO PRODUCTS

Simone C. Chiapetta, Cinthia da Conceição Garcia, Felipe J. A. Batista, Elba S. Oliveira, Ademário I. da Silva

J22 | Sexta-feira | 05/09/14..... 188

POTENCIAL DE CONTAMINAÇÃO DE CORPOS HÍDRICOS POR ANTIBIÓTICOS UTILIZADOS NA PRODUÇÃO AVÍCOLA

Figueiredo, L.A; Monteiro, S.H.; Francisco, J.G.; Silva, D.H.; Moura Andrade, G.C.R.; Pimpinato, R.F.; Tornisielo, V.L.

J23 | Sexta-feira | 05/09/14..... 189

COMPORTAMENTO DE FLUOROQUINOLONAS EM CORPOS D'ÁGUA EM ÁREA RURAL

Figueiredo, L.A; Monteiro, S.H.; Francisco, J.G.; Silva, D.H.; Moura Andrade, G.C.R.; Pimpinato, R.F.; Tornisielo, V.L.

J24 | Sexta-feira | 05/09/14 190

ANÁLISE DE AÇÚCARES LIVRES OBTIDOS PELO TRATAMENTO DO BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR COM ÁCIDO POR LC/MS/M	
Alessandra V. da Silva, Matheus de O. Souza, Rafael Garrett, Márcio Nele, Leandro S. M. Miranda, Marcelo M. Pereira	
J25 Sexta-feira 05/09/14.....	191
QUANTIFICAÇÃO DE ACETAIS DE MONOSSACARÍDEOS POR LC/MS/MS	
Matheus de O. Souza, Thalita G. Barros, Rafael Garrett, Leandro S. M. Miranda, Marcelo M. Pereira	
J26 Sexta-feira 05/09/14	192
ADEQUAÇÃO DE ÁGUAS DE POÇOS SUBTERRÂNEOS POR CROMATOGRAFIA DE TROCA-IÔNICA	
Laedja M. Barbosa; Ausberta Jesus C. Garcia; Denise D. da Silva	
J27 Sexta-feira 05/09/14.....	193
DETERMINAÇÃO DE HORMÔNIOS EM ÁGUAS SUPERFICIAIS E DE ABASTECIMENTO ATRAVÉS DE EFS-CLAE-EM	
Andre Felipe de Oliveira, Maria A. Carvalho de Medeiros	
J28 Sexta-feira 05/09/14	194
MONITORAMENTO AMBIENTAL ATRAVÉS DA AVALIAÇÃO DE HIDROCARBONETOS TOTAIS DO PETRÓLEO	
Vinícius Praia Carvalho (PG), Allan S. Polidoro (PG), Elina B. Caramão (PQ), Rosângela A. Jacques (PQ)	
J29 Sexta-feira 05/09/14	195
SEÇÃO K Técnicas Modernas em HPLC, U-HPLC, LC-capilar, LCxLC, Fast LC	
FASES ESTACIONÁRIAS MONOLÍTICAS PARA SEPARAÇÕES NO MODO HILIC USANDO CROMATOGRAFIA LÍQUIDA CAPILAR	
Mariana R. Gama, Milton L. Lee, Carla B. G. Bottoli	
K1 Sábado 06/09/14	197
AUMENTO DA EFICIÊNCIA CROMATOGRÁFICA DE COLUNAS MONOLÍTICAS CAPILARES BASEADAS EM BUTILMETACRILATO	
Mariana R. Gama, Milton L. Lee, Carla B. G. Bottoli	
K2 Sábado 06/09/14	198
FROM 60 µm PARTICLES TO 1 µm PARTICLES: WHAT HAS CHANGED ON THE SCIENCE OF LIQUID CHROMATOGRAPHY?	
Amanda Quatrocchio Liporini (PG), Fernando Mauro Lanças (PQ)	
K3 Sábado 06/09/14	199
DETERMINAÇÃO DE FÁRMACOS EM PLASMA DE PACIENTES ESQUIZOFRÊNICOS POR 2D(MONOLÍTICO/ C18)-LC-MS/MS	
Diego S. Domingues; Israel D. Souza; Maria E. C. Queiroz	
K4 Sábado 06/09/14.....	200
VALIDAÇÃO DE MÉTODO ANALÍTICO PARA DETERMINAÇÃO DE P-METOXICINAMATO DE OCTILA POR UPLC	
Prado, A. H.; Borges, M.C.; Pestana, K. C.; Peccinini, R. G.; Chorilli, M.	
K5 Sábado 06/09/14	201

DESENVOLVIMENTO DE ENSAIO DE PROFICIÊNCIA EM MEDICAMENTOS UTILIZANDO-SE CLAE Carlos E. de O. Pereira, Gerson A. Pianetti, Scheilla V. C. de Souza K6 Sábado 06/09/14.....	202
INFLUÊNCIA DA CONCENTRAÇÃO DE ÁGUA NA PREPARAÇÃO DE MONOLITOS DE TiO ₂ PARA CLC Carla G. A. da Silva (PQ), Carol H. Collins (PQ) e Carla B. G. Bottoli (PQ) K7 Sábado 06/09/14	203
DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE MÉTODOS ANALÍTICOS PARA DETERMINAÇÃO DE SILDENAFILI Taízia Dutra Silva; Ana Carolina Guimarães Ribeiro, Cibele Rodrigues Toledo; Cristina D. Vianna-Soares K8 Sábado 06/09/14.....	204
DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO ANALÍTICO PARA DETERMINAÇÃO DE DILTIAZEM EM FORMAS FARMACÊUTICAS SÓLIDAS Mateus A. C. e Souza; Gerson A. Pianetti; Fernando H. A. Nogueira K9 Sábado 06/09/14.....	205
DEVELOPMENT OF A HILIC-UPLC-ELSD METHOD FOR DETERMINATION OF POLYOLS FROM BIOCONVERSION OF GLYCERIN Pedro R. Fontes, José A.A. Ribeiro, Carolina M. Poletto, Mônica C.T. Damaso, Patrícia V. Abdelnur, Clenilson M. Rodrigues K10 Sábado 06/09/14	206
DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO RP-UPLC-PDA PARA DETERMINAÇÃO DE ÉSTERES DE FORBOL EM JATROPHA CURCAS José A.A. Ribeiro; Obede R. Ferreira; Karoline S. Oliveira; Simone Mendonça; Patrícia V. Abdelnur; Clenilson M. Rodrigues K11 Sábado 06/09/14	207
FAST, HIGH-EFFICIENCY SEPARATIONS ON A 4 MICROM ION EXCHANGE PHASE WITH A HIGH-PRESSURE IC SYSTEM Carl Fisher, Barbara Shao, Maria Rey, Linda Lopez, Marc Yves Chalom K12 Sábado 06/09/14.....	208
OTIMIZAÇÃO MULTIVARIADA DOS PARÂMETROS DE DETECÇÃO PARA AÇÚCARES POR ELSD Simone C. Chiapetta, Joana P. M. Carletto, Frederico G. L. Pereira, Tayná S. Vargas, Annibal D.P. Netto K13 Sábado 06/09/14.....	209
LIQUID CHROMATOGRAPHY METHODS FOR THE CHARACTERIZATION OF AQUEOUS PHASE FROM BIO-OILS D. Tomasini, F. Cacciola, F. Rigano, D. Sciarrone, P. Donato, M. Beccaria, C. Zini, E. Caramão, P. Dugo, L. Mondello K14 Sábado 06/09/14	210
ESTUDO DA DEGRADAÇÃO DO ÁCIDO FÓLICO EM FARINHA DE TRIGO E PÃO FRANCÊS COM A UTILIZAÇÃO DE U-HPLC Daniela Andrade Neves, Giovanna Pisanelli Rodrigues de Oliveira, Helena Teixeira Godoy K15 Sábado 06/09/14.....	211

SEÇÃO L | Caracterização Cromatográfica de Combustíveis Fósseis e Renováveis e Seus Derivados

DETERMINAÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS EM ÓLEO VEGETAIS E ANÁLISE DAS COMPONENTES PRINCIPAIS Érico Vinícius Rocha Sanches, Nilva Ré, Luiz Herinque Vianna L1 Sábado 06/09/14	213
GCXGC COMO UMA FERRAMENTA PARA A DETERMINAÇÃO DE MARCADORES BIOLÓGICOS EM ÓLEO CRÚ Noroska Gabriela Salazar Mogollón, Paloma Santana Prata, Fabio Augusto L2 Sábado 06/09/14	214
MONITORAMENTO DA OXIDAÇÃO DO BIODIESEL DE GIRASSOL VIA CROMATOGRAFIA GASOSA Caroline T. Rockembach, Marco A. Z. dos Santos, Bruno N. da Rosa, Victoria de Moraes Gonçalves, Claudio M. P. de Pereira L3 Sábado 06/09/14	215
COMPARAÇÃO DE MÉTODOS POR CG/EM E IV PARA ANÁLISE DE TEOR DE BIODIESEL EM MISTURAS BIODIESEL: DIESEL Daniella Lopez Vale (PG); Debora de Almeida Azevedo (PQ); Michelle Jakeline Cunha Rezende (PQ) L4 Sábado 06/09/14	216
ANÁLISE DE COMPOSTOS OXIGENADOS EM AMOSTRAS DE FISCHER-TROPSCH POR GC×GC-TOFMS Fernandes, D. R., Pereira, V. B., Stelzen, K. T., Gomes, A. O., Azevedo, D. A., Aquino Neto, F. R. L5 Sábado 06/09/14	217
ÓLEO DE GIRASSOL NA PRODUÇÃO DE BIODIESEL: OTIMIZAÇÃO DE MÉTODOS EM MICROONDAS E ULTRASSOM Marco A. Z. Santos; Caroline T. Rockembach; Bruno V. Muchale; Chayane P. Flores; Jessica T. Martins; Claudio M. P. de Pereira L6 Sábado 06/09/14	218
DETERMINAÇÃO DO TEOR DE ÉSTER EM BIODIESEL POR HPLC/UV-VIS: ALTERNATIVA PARA AMPLIAR A CAPACIDADE DE MONITORAMENTO DA QUALIDADE DE BIOCOMBUSTÍVEIS Mirra Angelina Neres da Silva(IC), Mariana de Sousa Gomes (IC), Isabel Cristina Pereira Fortes (PG) L7 Sábado 06/09/14	219
ANALYSIS OF COMPLEX PETROCHEMICALS BY GC×GC-TOFMS WITH SELECT-EV VARIABLE-ENERGY ELECTRON IONISATION Chris Llewellyn, Júlio César L8 Sábado 06/09/14	220
DETERMINAÇÃO DE ÂNIONS NA MATRIZ BIODIESEL POR HPLC V.P. Amaral, L.M.L.A Auler, I.C.P Fortes L9 Sábado 06/09/14	221
CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA E ESPECTROFOTOMETRIA APLICADAS À QUANTIFICAÇÃO DE BIODIESEL Bueno-Borges, L. B.; Casale, D. E.; Santos, G. C.; Regitano-Darce, M. A. B. L10 Sábado 06/09/14.....	222

AVALIAÇÃO DA COMPOSIÇÃO DE HIDROCARBONETOS EM DIESEL APÓS HIDROTRATAMENTO UTILIZANDO CGXCG

Cleber Vinicius Ursini, Klaire Cerqueira Paes, José Luiz Zotin, Fátima Dutra Faria

L11 | Sábado | 06/09/14 223

IMPROVING ACCURACY AND PRECISION IN CRUDE OIL BOILING POINT DISTRIBUTION ANALYSIS

Daniel Kazakevicius; Leonardo Noguchi

L12 | Sábado | 06/09/14 224

EMPREGO DO GC-BID NA VALIDAÇÃO DE UM NOVO MÉTODO PARA A QUANTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS NITROGENADOS EM AMOSTRAS DE DIESEL COMERCIAL BRASILEIRO

Aline N. Silva, Gabriela P. S. Maciel, Maria Elisabete Machado, Elina B. Caramão

L13 | Sábado | 06/09/14 225

PRODUÇÃO DE BIODIESEL COM FLUÍDOS PRESSURIZADOS E SUA CARACTERIZAÇÃO UTILIZANDO HRGC
Leidimara Pelisson (PG), Fernando M. Lanças (PQ)

L14 | Sábado | 06/09/14 226

AUTOMAÇÃO DO PROCESSO DE SEPARAÇÃO DE FRAÇÕES DE PORFIRINAS DE ÓLEOS POR CROMATOGRAFIA EM SÍLICA-GEL

Daniel M. Silva, Álvaro J. Pereira, Christiane B. Duyck, Tatiana D. Saint’Pierre

L15 | Sábado | 06/09/14 227

CARACTERIZAÇÃO DE BIO-ÓLEO DE PALHA DE CANA DE AÇÚCAR: FRACIONAMENTO PRESSURIZADO E GCXGC/QMS

Michele E. da Cunha, Lisiane dos Santos Freitas, Andrea Pinho, Fábio L. Mendes, Elina B. Caramão

L16 | Sábado | 06/09/14 228

AVALIAÇÃO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DA FASE AQUOSA DO BIO-ÓLEO OBTIDO POR PIRÓLISE CATALÍTICA

Daniela Dal Molin, Michele E. da Cunha, Juliana M. Silva, Andrea Pinho, Fábio L. Mendes, Elina B. Caramão

L17 | Sábado | 06/09/14 229

SEÇÃO M | Técnicas Modernas de Preparo de Amostras SPME, SBSE, LPME, MEPS, Etc.

EXTRAÇÃO DE CONTAMINANTES ORGÂNICOS EMPREGANDO CONCHAS DE MEXILHÃO COMO SUPORTE SÓLIDO PARA MSPD

Jean Lucas de Oliveira Arias, Caroline Rombaldi, Gabriel Ianzer Hertzog, Sergiane Souza Caldas, Ednei Gilberto Primel

M1 | Sábado | 06/09/14 231

PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL PARA QUANTIFICAÇÃO DE ALFA-IONONA E BETA-IONONA POR SMPE

Natália Aguiar Brittes Tinoco, Cláudia Maria Luz Lapa Teixeira, Claudia Moraes de Rezende

M2 | Sábado | 06/09/14 232

DETECÇÃO DE SULFONAMIDAS EM ÁGUAS RESIDUÁRIAS UTILIZANDO MICROEXTRAÇÃO LIQUÍDO-LIQUÍDO e cLC-CS-MS

Adriel M. Lima, Carlos E. D. Nazario, Fernando M. Lanças, Alvaro J. Santos-Neto

M3 | Sábado | 06/09/14 233

AVALIAÇÃO DE TÉCNICAS MINIATURIZADAS NA EXTRAÇÃO DA OXCARBAZEPINA E METABÓLITO EM MEIO MICROSSOMAL Mariana Zuccherato Bocato, Anderson Rodrigo Moraes de Oliveira M4 Sábado 06/09/14.....	234
EMPREGO DA MSPD PARA EXTRAÇÃO DE FÁRMACOS DE PEIXES EMPREGANDO DIFERENTES SUPORTES SÓLIDOS Karina Lotz Soares, Caroline Rombaldi, Gabriel Ianzer Hertzog, Sergiane Souza Caldas, Ednei Gilberto Primel M5 Sábado 06/09/14.....	235
DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO PARA DETERMINAÇÃO DE AGROTÓXICOS EM LODO DE ETA EMPREGANDO GC-MS Karina L. Soares, Maristela B. R. Cerqueira, Ayrton F. Martins, Sergiane S. Caldas, Ednei G. Primel M6 Sábado 06/09/14.....	236
DETERMINAÇÃO DE ÁCIDO MONOFLUOROACÉTICO EM PLANTAS TÓXICAS EMPREGANDO HS-SPME-GC-MS/MS Geovanna Vilalva Freire (PG), Herlon Souza Sommerfeld (PG), Nilva Ré (PQ) M7 Sábado 06/09/14.....	237
DETERMINAÇÃO DE SULFONILURÉIAS EM PLASMA HUMANO EMPREGANDO CLAE COM COLUNAS RAM E DE NÚCLEO FUNDIDO Juliana V. Ferreira, Gérson A. Pianetti, Christian Fernandes M8 Sábado 06/09/14.....	238
PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE UM SORVENTE DE BAIXA HIDROFOBICIDADE PARA EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA Augusto S. Novais, Anizio M. Faria M9 Sábado 06/09/14.....	239
SÍNTESE DO SORVENTE MONILÍTICO HÍBRIDO (SÍLICA) PARA ANÁLISES MEPS/LC-MS/MS DE FÁRMACOS EM PLASMA Israel D. Souza, Diego S. Domingues, Maria E. C. Queiroz M10 Sábado 06/09/14.....	240
DETERMINAÇÃO DE FÁRMACOS EM AMOSTRAS DE PLASMA POR DPX(C18-BSA) / LC-MS/MS Mônia Ap. Lemos Pinto (PG), Diego S. Domingues (PG), Maria E. C. Queiroz (PQ) M11 Sábado 06/09/14.....	241
DESENVOLVIMENTO DE MIP PARA ANÁLISES (SPE/UPLC-MS/MS) DE VENLAFAXINA EM AMOSTRAS DE PLASMA Luis Felipe C. Miranda, Maria Eugênia Costa Queiroz M12 Sábado 06/09/14.....	242
SÍNTESE DO POLÍMERO MOLECULARMENTE IMPRESSO PARA EXTRAÇÃO E ANÁLISE DE BISFENOL A POR DPX/GC-MS Tamires Amabile Valim; Maria Eugênia Queiroz Nassur M13 Sábado 06/09/14.....	243

OTIMIZAÇÃO DA DLLME PARA DETERMINAÇÃO SIMULTÂNEA DE AGROTÓXICOS E PPCPS EM AMOSTRAS DE ÁGUA	
Elisane O. Santos, Liziane C. Marube, Sergiane S.Caldas, Karina L.Soares, Ednei Gilberto Primel	
M14 Sábado 06/09/14	244
DETECTION OF COFFEE ADULTERATION BY SOLID-PHASE MICROEXTRACTION USING POLYMERIC IONIC LIQUIDS	
Bruna R. Toledo, Leandro W. Hantao, Tien D. Ho, Fabio Augusto, Jared L. Anderson	
M15 Sábado 06/09/14	245
DETERMINAÇÃO SIMULTÂNEA DE FÁRMACOS ANTIDIABÉTICOS ORAIS EM PLASMA HUMANO EMPREGANDO MEPS E HPLC-UV	
Iara Maíra de O. Viana; Paula de P. R. Lima; Cristina D. V. Soares; Christian Fernandes	
M16 Sábado 06/09/14	246
AVALIAÇÃO DO POLI(ÁCIDO METACRÍLICO) SINTETIZADO EM FIBRA PARA DETERMINAÇÃO DE CARVEDILOL	
Silva, A. T. M.; Fonseca, M. C.; Oliveira, H. L.; Silva, R. C. S.; Mano, V.; Figueiredo, E. C.; Borges, K. B.	
M17 Sábado 06/09/14.....	247
SÍNTESE NÃO-COVALENTE E CARACTERIZAÇÃO DE UM POLÍMERO DE IMPRESSÃO MOLECULAR PARA TRAMADOL	
Fonseca, M. C.; Silva, A. T. M.; Oliveira, H. L.; Silva, R. C. S.; Mano, V.; Figueiredo, E. C.; Borges, K. B.	
M18 Sábado 06/09/14	248
MICRO-SPE EMPREGANDO POLÍMERO MOLECULARMENTE IMPRESSO PARA EXTRAÇÃO SELETIVA DE CETOCONAZOL	
Silva, R. C. S.; Silva, A. T. M.; Fonseca, M. C.; Oliveira, H. L.; Mano, V.; Figueiredo, E. C.; Borges, K. B.	
M19 Sábado 06/09/14	249
FILTROS DE CIGARROS COMO ADSORVENTE EM μ -SPE PARA A EXTRAÇÃO DE CETOCONAZOL EM URINA	
Teixeira, R. A.; Silva, R. C. S.; Pereira, A. C., Borges, K. B.	
M20 Sábado 06/09/14.....	250
SORPTION-BASED MICROEXTRACTION TECHNIQUES - STATE-OF-THE-ART AND FUTURE TRENDS	
J.M.F. Nogueira	
M21 Sábado 06/09/14.....	251
HPLC AND DLLME FOR THE ANALYSIS OF LORATADINE AND DESLORATADINE IN FUNGAL CULTURE MEDIUM	
Anna Carolina Câmara Damazio; Denise Oliveira Guimarães; Michelle Frazão Muzitano; Thiago Barth	
M22 Sábado 06/09/14	252
O AVANÇO DA TÉCNICA DE MICROEXTRAÇÃO EM SORVENTE EMPACOTADO (MEPS) NA ANÁLISE DE ALIMENTOS	
Patricia Regina de Souza; Fernando Mauro Lanças	
M23 Sábado 06/09/14	253

NOVA TECNOLOGIA DE AUTOMAÇÃO SOLUCIONA AS LIMITAÇÕES DO ACOPLAMENTO SPE-SEPARAÇÃO CROMATOGRÁFICA Rick Youngblood, Kim Gamble, Danilo Pierone M24 Sábado 06/09/14.....	254
DESENVOLVIMENTO DE UM MÉTODO ANALÍTICO PARA DETERMINAÇÃO DE SULFUNILURÉIAS EMPREGANDO MEPS-LC-ToF Felipe Nascimento Andrade, Álvaro José dos Santos Neto, Fernando Mauro Lanças M25 Sábado 06/09/14.....	255
DETERMINAÇÃO DE TRIAZOLE, TRAZINAS E TRIAZINONAS EM ÁGUA POR DLLME E CG-MS: UMA AVALIAÇÃO INICIAL Jaqueline da Silva Duarte, Eliana Freire Gaspar de Carvalho Dores, Ricardo Dalla Villa M26 Sábado 06/09/14.....	256
AVALIAÇÃO DO EFEITO DE MATRIZ NA PRÉ-CONCENTRAÇÃO DE PRODUTOS DE DEGRADAÇÃO DA SULFAMETAZINA Martins J., Ferreira T., Lanças F., Santos-Neto A. M27 Sábado 06/09/14.....	257
DESENVOLVIMENTO DE UM MÉTODO ANALÍTICO PARA DETERMINAÇÃO DE AGROTÓXICOS EM GARAPA POR MEPS-GC-MS Bruno Fumes; Fernando Mauro Lanças M28 Sábado 06/09/14.....	258
SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DO GRAFENO COMO SORVENTE EM MEPS Bruno Fumes; Fernando Mauro Lanças M29 Sábado 06/09/14.....	259
SÍNTESES DE MIPS PARA A DETERMINAÇÃO DE SULFONAMIDAS EM MATRIZES COMPLEXAS Luis Felipe Rodríguez Cabal, Fernando Mauro Lanças, Álvaro José dos Santos Neto M30 Sábado 06/09/14.....	260
ESTUDO DE BIOTRANSFORMAÇÃO DA ZOPICLONA E ANÁLISE ENANTIOSSELETIVA EMPREGANDO DLLME-CE Nayara Cristina Perez de Albuquerque; Anderson Rodrigo Moraes de Oliveira M31 Sábado 06/09/14.....	261
AVALIAÇÃO DA DLLME NA EXTRAÇÃO DE MARCADORES DA PRÓPOLIS PARA POSTERIOR ESTUDO DE METABOLISMO Daniel B. Carrão, Andresa A. B. Silva, Anderson R. M. de Oliveira M32 Sábado 06/09/14.....	262
DETERMINAÇÃO DPX/LC-UV DE DEXAMETASONA EM SISTEMAS MICROPARTICULADOS DE LIBERAÇÃO CONTROLADA F. Q. Soares, M. C. R. C. Coltro, M. A. Ruggiero, E. M. Lima, D. Rabelo, E A. R. Chaves M33 Sábado 06/09/14.....	263

DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA POR HS-SPME/ CG-FID PARA DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS VOLÁTEIS EM VINHOS

Stefany Grützmänn Arcari; Vinícius Caliari; Helena Teixeira Godoy
M34 | Sábado | 06/09/14.....264

DETERMINAÇÃO DE PESTICIDAS EM GRÃOS DE SOJA POR QUECHERS/ DLLME

Márcia Regina L. de Magalhães, Eliana Freire G. de C. Dores e Ricardo Dalla Villa
M35 | Sábado | 06/09/14.....265

USO DE CORTIÇA COMO FASE EXTRATORA PARA A MICROEXTRAÇÃO COM BARRA ADSORTIVA

Adriana Neves Dias, Josias de Oliveira Merib, Vanessa Simão, Eduardo Carasek
M36 | Sábado | 06/09/14.....266

OTIMIZAÇÃO DAS CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS DE UM NOVO PROCEDIMENTO PARA A MICROEXTRAÇÃO EM GOTA ÚNICA

Josias Merib, Adriana Neves Dias, Vanessa Simão, Eduardo Carasek
M37 | Sábado | 06/09/14.....267

DETERMINAÇÃO DE CONTAMINANTES EMERGENTES EM MATRIZES AQUOSAS POR HF-DLLME E DETECÇÃO POR HPLC-DAD

Daniela Lopes, Vanessa Simão, Adriana Neves Dias, Eduardo Carasek
M38 | Sábado | 06/09/14.....268

MICROEXTRAÇÃO LÍQUIDO-LÍQUIDO DISPERSIVA SUPOSTADA POR MEMBRANA OCA PARA ANÁLISE DE AFLATOXINAS

Vanessa Simão, Adriana Neves Dias, Josias de Oliveira Merib, Eduardo Carasek
M39 | Sábado | 06/09/14.....269

DEVELOPMENT A LIQUID PHASE MICROEXTRACTION METHOD WITH HOLLOW FIBER HF-SBSE FOR ANALYSING OF ORGANOCHLORINE COMPOUNDS IN WATER SAMPLES BY GC-ECD

JA Fiscal L, L Correa C, S Ceballos L, A De la Ossa S; G Taborda O, M Rosero-Moreano
M40 | Sábado | 06/09/14.....270

EXTRAÇÃO ON-LINE ACOPLADA À CROMATOLOGRAFIA LÍQUIDA (OLE-LC): UMA ESTRATÉGIA PARA ANÁLISE DIRETA

Vinícius G. Ferreira, Gabriel M. Leme, Cristiano S. Funari, Alberto J. Cavalheiro
M41 | Sábado | 06/09/14.....271

SEÇÃO N | Outros

PURIFICAÇÃO DE L-ASPARAGINASE FÚNGICA POR CROMATOLOGRAFIA DE TROCA IÔNICA

Fernanda Furlan Gonçalves Dias, Hélia Harumi Sato
N1 | Sábado | 06/09/14.....273

CARACTERIZAÇÃO DE UMA NOVA FASE PARA CLAE BASEADA NA IMOBILIZAÇÃO DE POLI(ETILENIMINA) SOBRE SÍLICA

Samia R. Dib (PG), Anizio M. Faria (PQ)
N2 | Sábado | 06/09/14.....274

EVALUATION OF THE PHARMACEUTICAL EQUIVALENCE AND DISSOLUTION PROFILES OF CAPTOPRIL TABLETS Anny Karolinny A. Dourado; Eduardo B. Lages; Simone B. de Oliveira; Cristiane A. da Fonseca N3 Sábado 06/09/14.....	275
EFEITO DA POTÊNCIA DE RADIAÇÃO MICROONDAS NA IMOBILIZAÇÃO DE PDAS SOBRE SÍLICA COMO FASE PARA CLAE Giselle de O. Carvalho, Carla G. A. Silva, Anizio M. Faria N4 Sábado 06/09/14	276
ALTERAÇÕES NO PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS E NA COR DE ÓLEO USADO EM FRITURA DE DIFERENTES ALIMENTOS Inês Aparecida Santana, José Luiz Fejfar, Antonia Miwa Iguti N5 Sábado 06/09/14.....	277
ESTUDO TEÓRICO DO MECANISMO DE SEPARAÇÃO QUIRAL DO 4-HIDROXIPROPRANOLOL USANDO CARBOXIMETIL-BETA-CD Nascimento Jr., C.S.; Lopes, J. F.; Guimarães, L.; Borges, K. B. N6 Sábado 06/09/14	278
DETERMINAÇÃO DE AMINOÁCIDOS LIVRES EM PRODUTOS CÁRNEOS MATURADOS POR CG/DIC Donadel, J. Z.; Ribeiro, S. R.; Vendruscolo, R.G.; Klein, B.; Wagner, R. N7 Sábado 06/09/14.....	279
VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA ANALÍTICA PARA RIVASTIGMINA CÁPSULA POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA (CLAE) Iara Coutinho Desmarais; Mara Fernandes Ribeiro; Aline Rocha N8 Sábado 06/09/14	280
AVALIAÇÃO DA DISSOLUÇÃO DE CÁPSULAS GELATINOSAS POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA (CLAE) Aline Rocha; Iara Coutinho Desmarais; Mara Fernandes Ribeiro N9 Sábado 06/09/14	281
CARACTERIZAÇÃO DO PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS POR GC/MS DO CAMARÃO ROSA FARFANTEPENAEUS PAULENSIS Roberto S. da Cruz, Marco A. Z. dos Santos, Caroline T. Rockembach, Francisco A. B. Del Pino, Rogério A. Freitag N10 Sábado 06/09/14.....	282
SÍLICA ALUMINIZADA COMO SUPORTE PARA APLICAÇÃO EM CLAE Renata C. Nome e Carol H. Collins N11 Sábado 06/09/14.....	283
OTIMIZAÇÃO E VALIDAÇÃO DA EXTRAÇÃO DE ESQUALENO CONTIDO NA CYANOBACTERIA PHORMIDIUM SP. Tassiane dos Santos Ferrão; Mariane B. Fagundes; Eduardo Jacob-Lopes; Roger Wagner N12 Sábado 06/09/14	284

AVALIAÇÃO DE DIFERENTES SÍNTESES DE SÍLICA SUPERFICIALMENTE MODIFICADA POR LÍQUIDOS IÔNICOS UTILIZANDO METODOLOGIA SOL-GEL E SEU EMPREGO NO PREPARO DE AMOSTRA

Meire Ribeiro da Silva, Álvaro J. dos Santos Neto, Fernando M. Lanças

N13 | Sábado | 06/09/14285

DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIA PARA DETERMINAÇÃO DE ALCALOIDES POR MLC E DETECÇÃO FLUORIMÉTRICA

Mateus, N. S., Lamounier, A. P., da Cunha, A.L.M.C., Soriano, S., Luna, A.S., Aucélio, R.Q.

N14 | Sábado | 06/09/14286

DETERMINAÇÃO DE ALQUILBENZENO LINEAR SULFONATO EM ESTAÇÃO DE TRATAMENTO DE ESGOTO POR CLAE

Luiz G. Silva, Danúbia M. S. Freitas, Ronaldo M. Fonseca, Savia Gavazza, Lourdinha Florencio e Mario T. Kato

N15 | Sábado | 06/09/14287

HIGHLY SENSITIVE AND SELECTIVE ANALYSES BY SFC WITH FL DETECTION FOR TRACE AMOUNTS OF COMPOUNDS

David J. Tognarelli

N16 | Sábado | 06/09/14288

USO DAS TÉCNICAS DE CLAE-UV E CLAE-DAC PARA DETERMINAÇÃO DA PUREZA DO PADRÃO DE 1-AMINOINDANTOÍNA

F. G. M. Violante, B. C. Garrido, V.V. de Lima, F. R. Aquino Neto

N17 | Sábado | 06/09/14289

AVALIAÇÃO CROMATOGRÁFICA DE UMA FASE DE BAIXA HIDROFOBICIDADE IMOBILIZADA TERMICAMENTE PARA CLAE-FR

Maria Cecília B. César, Carla G. A. da Silva, Anizio M. Faria

N18 | Sábado | 06/09/14290

QUIMIOTAXONOMIA DA COMUNIDADE FITOPLANCTÔNICA DA BACIA DO ESPÍRITO SANTO (INVERNO 2013)

S.V. Rodrigues; V.F. Brant; J.A.A. França Jr.; H. G. Severino; E. Marcon; V.P.R. Ferreira

N19 | Sábado | 06/09/14291

INFLUÊNCIA DO CONTEÚDO ORGÂNICO DA FASE MÓVEL NA RETENÇÃO DE COMPOSTOS EM FASE FLUORADA

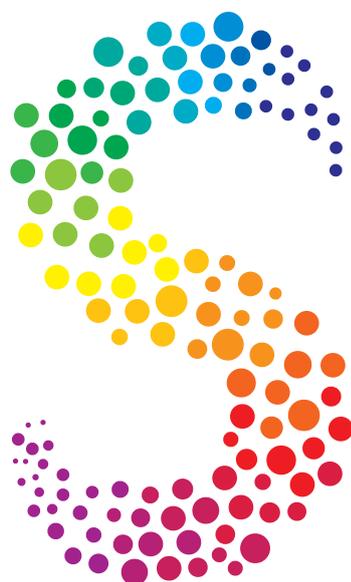
Claudio de Castro Ferreira, Isabel Cristina Sales Fontes Jardim

N20 | Sábado | 06/09/14292

DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS ANALÍTICOS PARA QUANTIFICAÇÃO DE METABÓLITOS EM LEVEDURAS POR UPLC-MS/MS

Christiane G. Campos, José Antônio de A. Ribeiro, Patrícia P. K. G. Costa, Clenilson M. Rodrigues, Patrícia V. Abdelnur

N21 | Sábado | 06/09/14293



SEÇÃO A

ADVANCES IN NEUROCHEMICAL PROFILING OF BRAIN TISSUE BY HPLC&NEW ELECTROCHEMICAL ARRAY DETECTOR

Bruce Bailey¹, Nicholas Santiago¹, Ian Acworth¹, Marc Yves Chalom²

*Thermo Fisher Scientific, ¹Chelmsford, MA, U.S.A., ²São Paulo, SP, BR
marc.chalom@thermofisher.com*

The ability to measure low levels of many different neurochemicals simultaneously is challenging due to detector sensitivity and the chromatographic challenge of resolving analytes with similar chemical structures. Most of the biogenic amines and metabolites can be oxidized electrochemically so the use of electrochemical detection is routine for the analysis of these compounds. Chromatographic techniques have advanced over the years, however, even with the use of UHPLC columns, baseline resolution of many different analytes still remains difficult due to the constraints of isocratic HPLC mode for their separation. Although gradient elution would improve analyte resolution, electrochemical detection is typically only used with isocratic approaches due to adverse effects on detector performance. A new modular electrochemical detector has been developed that uses multiple coulometric electrodes in series, with each electrode having a unique potential setting. This provides additional resolution of analytes beyond chromatographic separation using voltammetric techniques. The detector is compatible with gradient HPLC techniques and provides an autoranging feature that enables the simultaneous measurement of low and high level analytes. Qualitative information is thereby enhanced while still maintaining quantitative sensitivity requirements for specific analytes at low concentrations. Profiling of biogenic amines, their metabolites and precursor amino acids using HPLC chromatographic techniques with a multichannel electrochemical instrument and readily available column and mobile phase is described. Examples illustrating the content of biogenic amines and acid metabolites in brain tissue samples are presented, using a four channel electrochemical array combined with UHPLC chromatographic separation. The method was both highly sensitive and rapid. All compounds were analyzed within 15 minutes and with limits of detection of less than 10 picograms on-column. Voltammetric resolution offers better insights into the proper identification of individual compounds since each will have a unique but reproducible pattern across the four electrode channels.



AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DE ANTICOAGULANTES SOBRE MÉTODOS BIOANALÍTICOS PARA ESTUDOS FARMACOCINÉTICOS E DE BIODISPONIBILIDADE/BIOEQUIVALÊNCIA DE NAPROXENO SÓDICO E SUCCINATO DE SUMATRIPTANO

Juliana Machado Brêtas, Isabela da Costa César, Camila Machado Brêtas,
Leonardo de Souza Teixeira, Gerson Antônio Pianetti

Departamento de Produtos Farmacêuticos - Faculdade de Farmácia, UFMG, Belo Horizonte (MG), Brasil
Instituto de Ciências Farmacêuticas, Goiânia (GO), Brasil
jubretas@gmail.com

A Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada à Espectrometria de Massas (CLAE-EM/EM) é a técnica de escolha para análise de fármacos e metabólitos em matrizes biológicas, como em estudos farmacocinéticos e de biodisponibilidade/bioequivalência. As altas taxas de seletividade e sensibilidade associadas a essa técnica são amplamente afetadas pela ocorrência de efeito matriz em métodos bioanalíticos, o qual é resultante de diversos tipos de substâncias coeluídas com o analito, como os anticoagulantes utilizados na obtenção de plasma, principal matriz biológica empregada em bioanálise. Os anticoagulantes mais utilizados em bioanálise são heparina, EDTA e solução de citrato, fosfato, ácido cítrico, dextrose e adenina (CPDA). A associação de naproxeno (NAP), um anti-inflamatório não esteroide, com sumatriptano (SUM), um agonista seletivo do receptor 5-hidroxitriptamina_{1B/1D}, é usada para o tratamento de crises de enxaqueca. NAP é uma substância ácida (pKa 4,8) e SUM é básica (pKa 9,63), sendo essa ampla diferença de pH o fator limitante no desenvolvimento dos procedimentos de preparo de amostra, separação cromatográfica e detecção. Nesse estudo avaliou-se o impacto do tipo de anticoagulante (heparina, EDTA ou CPDA), do tipo de íon associado (sódio ou potássio) e da concentração do íon na solução de anticoagulante sobre os parâmetros da validação do método e sobre as medidas farmacocinéticas obtidas na análise de amostras de voluntários sadios na quantificação simultânea de NAP sódico e succinato de SUM em plasma humano por CLAE-EM/EM com ionização por electrospray positivo (IES(+)). Para tal, desenvolveu-se e validou-se um método bioanalítico de acordo com a Resolução RDC nº 27 de 17 de maio de 2012 da ANVISA em três matrizes distintas: plasma contendo heparina, EDTA ou CPDA. Os analitos foram extraídos do plasma por meio de extração líquido-líquido, utilizando aceclofenaco (ACE) como padrão interno para NAP e naratriptano (NAR) para SUM. Em um sistema CLAE com amostrador a 8°C foram injetados 20 µL das amostras. A separação cromatográfica foi realizada em coluna C₁₈ (50 mm × 4,6 mm, 5µm) a 30 °C e fase móvel constituída de tampão acetato de amônio a 2 mM com 0,025% de ácido fórmico e metanol (38:62 v/v) a um fluxo de 1 mL/min com splitting (9:1). Os íons foram monitorados em modo Monitoramento Múltiplo de Reações (MRM) com transições de m/z 231,67 → 185,07 para NAP, m/z 296,70 → 157,30 para SUM, m/z 354,80 → 215,00 para ACE e m/z 336,80 → 97,94 para NAR. Após a validação, aplicou-se o método na análise de amostras de voluntários sadios coletadas em tubos contendo heparina ou EDTA. De acordo com os resultados obtidos, não houve diferenças estatisticamente significativas entre os plasmas contendo cada um dos anticoagulantes analisados em nenhum dos parâmetros da validação e em nenhuma das medidas farmacocinéticas avaliadas. Portanto, o tipo de anticoagulante, o tipo de íon associado e a concentração do íon na solução de anticoagulante não impactam na quantificação simultânea de NAP sódico e succinato de SUM em plasma humano por CLAE-EM/EM com ionização por IES(+).

Agradecemos ao apoio da FAPEMIG, CAPES, ANVISA/FARMACOPEIA BRASILEIRA, ICF e CEDAFAR.

AVALIAÇÃO DA BIOTRANSFORMAÇÃO QUIRAL DA VENLAFAXINA POR FUNGOS: MUDANÇAS NAS CONDIÇÕES DE CULTIVO

Marcela Armelim Bortoleto¹, Mariana Zuccherato Bocato², Anderson Rodrigo Moraes de Oliveira¹

¹Dpto. de Química, FFCLRP, USP, Ribeirão Preto - SP, Brasil

²Dpto. de Farmácia, FCFRP, USP, Ribeirão Preto-SP, Brasil

mabortoleto@usp.br

A Biotransformação empregando fungos é muito utilizada para estudos de metabolismo de fármacos por mimetizarem o sistema enzimático de mamíferos. Além disso, podem apresentar enantiosseletividade e catalisar uma grande faixa de reações químicas. A venlafaxina (Vx) é um antidepressivo largamente empregado no tratamento da ansiedade. Após administração por via oral, a venlafaxina sofre biotransformação produzindo três metabólitos: N-desmetilvenlafaxina (N-Vx), N,O-didesmetilvenlafaxina e O-desmetilvenlafaxina (O-Vx) que também são quirais. Dessa forma, o objetivo desse trabalho foi avaliar a capacidade de fungos em biotransformar enantiosseletivamente o fármaco Vx. As análises foram realizadas por eletroforese capilar empregando um capilar de sílica fundida com comprimento total de 40 cm (30 cm efetivo) e 75 µm de diâmetro interno. A solução de análise consiste em tampão fosfato de sódio 50 mM pH 2,0 contendo a mistura de ciclodextrinas CM-β-CD (1%) e α-CD (8 mM). A tensão aplicada foi de +20kV e a temperatura do capilar 20°C. Inicialmente os fungos filamentosos em estudo foram repicados em placas de Petri contendo o meio de cultura PDA e incubados a 30° C. Em seguida, após o crescimento dos fungos sobre a placa, os fungos foram transferidos para 10 mL de meio pré-fermentativo de Malte e colocados sob agitação de 120 rpm a uma temperatura de 30° C por 10 dias. Em seguida, a massa micelial formada foi transferida assepticamente para 100 mL de meio Czapek juntamente com a venlafaxina (3 mg) e o procedimento de biotransformação foi iniciado. O procedimento teve duração de 480 horas, sendo que a cada 120 horas foram coletadas amostras para análise. O método de preparo de amostra utilizado foi a microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME). O resultados mostraram que somente o fungo *Cunninghamella elegans* foi capaz de biotransformar a Vx, porém com um rendimento muito baixo. Dessa forma, modificações nas condições de biotransformação foram realizadas na tentativa de aumentar o rendimento. As modificações no procedimento padrão foram: i) substituição da fonte de carbono do meio de cultura; ii) eliminação da fonte de carbono do meio de cultura; iii) eliminação da etapa de pré-fermentação; iv) adição da venlafaxina diretamente em meio Malte na etapa de pré-fermentação e v) adição de cofator NADPH em meio de cultura. Entre todas essas modificações, o maior rendimento foi alcançado substituindo-se o meio de cultura líquido Czapek pelo meio de cultura pré-fermentativo Malte como meio de biotransformação. Após essa modificação, a concentração de (+)-N-Vx encontrada no meio de cultura foi de 838 ng/mL. O processo mostrou 100% de excesso enantiomérico para esse metabólito e também não foi encontrado outros metabólitos da Vx no meio de cultura.

Agradecimentos: FAPESP, CAPES.



NEW STRATEGY FOR THE PURIFICATION OF HUMAN IMMUNOGLOBULIN M

Verinaud CI, Braga FC, Feliciano GP, Pinto JV, Raw I, Martins EAL, Cheng E

Centro de Biotecnologia, Instituto Butantan, SP, Brazil

elisabeth.cheng@butantan.gov.br

The interest in IgM has increased in recent years. IgM has been used to eliminate infectious pathogens in case of sepsis and cancer. Treatment of autoimmune disease has also been reported. IgM is a pentamer of approximately 950 kDa, and is present in blood in concentrations ranging 0.5 to 2.0 g/L. Each subunit is composed of 2 heavy chains of about 65 kDa each one and 2 light chains of 25 kDa each one. The light chain is common to all immunoglobulins, while the heavy chain determines the class of the immunoglobulin. The objective of this work is to purify IgM from human plasma by liquid chromatography. The strategy chosen was to apply plasma directly to a size exclusion column and then use an ion exchange column as the second step. The size exclusion column used was Sepharose 4FF. It is a large pore agarose resin suitable for industrial application. In this column IgM could be separated from higher molecular weight proteins like coagulation factor VIII, von Willebrand factor and fibrinogen and from the majority of the lower molecular weight proteins, including albumin and most of the IgG. To improve the purification and separate IgM from IgG we propose the use of ion exchange resins. The first resin tested was the Q Sepharose FF, an anion exchange resin, and the results indicate that IgM was very successfully separated from IgG. Under the experimental conditions used, IgG was recovered in the fraction containing the unbound proteins and IgM was eluted with 350 mM NaCl. This result indicates that the strategy employed can be an efficient method to purify IgM from plasma. Experiments with other ion exchange resins are underway. Comparison of the efficiency of IgM and IgG separation, IgM recovery and purity with different resins is necessary to evaluate the proposed strategy.

Supported by: Fundação Butantan, CNPq, Capes.

DETERMINAÇÃO DE PARABENOS EM AMOSTRAS DE PLASMA POR MICROSPE(MIP)/UPLC-MS/MS

Mariane Valéria Roldão (IC), Lidervan P. Melo (PQ) e Maria Eugênia C. Queiroz (PQ)

Departamento de Química da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto,

Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, SP, Brasil

marianeroldao@hotmail.com

Os parabenos ou ésteres do ácido p-hidroxibenzóico, tais como metil, etil, propil, e butil-parabenos, são amplamente utilizados como agentes antimicrobianos em produtos farmacêuticos, bebidas e cosméticos, devido ao seu amplo espectro de atividade. Os parabenos são considerados fracos desreguladores endócrinos uma vez que interferem na função dos hormônios estrogênicos, podendo gerar disfunções no comportamento hormonal e aumentar a suscetibilidade ao câncer de mama. Este trabalho tem como objetivo o desenvolvimento e validação de uma metodologia analítica para a determinação simultânea de parabenos em amostras de plasma para a avaliação da exposição a estas substâncias. Inicialmente, o Polímero Molecularmente Impresso (MIP) foi sintetizado, via polimerização radicalar, para a extração de parabenos em sistema de fase sólida miniaturizado, análises por UPLC-MS/MS e validação analítica do método desenvolvido, segundo as normas da ANVISA. MIPs são materiais sintéticos com sítios de reconhecimento molecular capazes de extrair seletivamente a molécula-alvo ou outras substâncias com estrutura análoga. No preparo do MIP, a solução de pré-polimerização foi preparada pela mistura: 4-vinilpiridina (monômero funcional), dimetacrilato de etileno glicol (agente reticulante) e benzilparabeno (molde), solubilizado em acetonitrila. 2,2'-azo-bis-iso-butironitrila foi utilizado como iniciador radicalar. O MIP sintetizado foi lavado com a solução metanol/etanol (90:10 v/v) para a remoção do benzilparabeno. Filtros na forma de microdiscos (celulose regenerada) recheados com 10 mg de MIP foram utilizados como dispositivo para extração microSPE. As condições de extração microSPE foram as seguintes: 200 µl de amostra de plasma diluída com 200 µL de água ultrapura, 100 µL de água ultrapura para limpeza do sorvente e eluição dos parabenos com 300 µL de metanol. As condições cromatográficas empregadas nas análises dos parabenos por UPLC-MS/MS consistiram de: fase móvel acetonitrila/água (60:40 v/v), com vazão de 0,3 mL.min⁻¹, no modo isocrático. O volume da amostra injetado foi de 5 µL. A separação cromatográfica foi realizada a 40°C em coluna Kinetex C18 (100 mm × 2,1 mm × 1,7-µm) (Phenomenex, USA). O método SPE/LC-MS/MS desenvolvido apresentou limite de quantificação de 1 ng.mL⁻¹, seletividade adequada, linearidade na faixa de 1,0 a 50 ng.mL⁻¹ e valores de precisão interessantes com coeficientes de variação inferiores a 15%. Desta forma, o método SPE(MIP)-UPLC-MS/MS é adequado para a avaliação de parabenos em amostras de plasma.

Agradecimentos à FAPESP (processos 2012/10705-9 e 2012/21178-0) e ao CNPq.



DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO SPE-LC-UV PARA QUANTIFICAÇÃO DE FIPRONIL EM PLASMA BOVINO

Thais P. Ferreira², Viviane S. Magalhães², Yara P. Cid¹,
Rodrigo M. Oliveira¹, Geraldo A. Pereira¹, Fabio B. Scott²

¹Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, DEQUIM-ICE

²Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, DPA-IV

tais_paes@hotmail.com

O fipronil é um inseticida pertencente à classe dos fenilpirazóis. Devido ao seu amplo espectro de ação possui recomendações de uso agrícola, saneante, veterinário e domissanitário. Por ser um inseticida de “nova geração”, o fipronil não segue as vias bioquímicas comuns aos piretróides, organofosfatos e carbamatos que são inseticidas clássicos aos quais alguns insetos já desenvolveram resistência. Seu mecanismo de ação está envolvido com o bloqueio da transmissão de sinal pela inibição do neurotransmissor ácido γ -aminobutírico (GABA) presente no inseto. A ação terapêutica de um fármaco é dependente de uma concentração eficaz deste no local de ação por um período de tempo. Uma vez que a concentração do fármaco no local de ação está em equilíbrio com a sua concentração na circulação sanguínea, para a maioria dos fármacos, a determinação da concentração no sangue, soro ou plasma se torna sua medida no local de ação, sendo a forma mais direta e objetiva para sua avaliação farmacocinética. O monitoramento do perfil de concentração do fármaco em função do tempo em um fluido fisiológico adequado permite a determinação de sua biodisponibilidade avaliando o efeito farmacológico em solução nos fluidos biológicos do local de absorção, sua estabilidade, permeabilidade e metabolismo pré-sistêmico sobre a velocidade e extensão de absorção. O método mais comumente utilizado para avaliação de biodisponibilidade envolve a construção de uma curva de concentração plasmática sanguínea em função do tempo. Os métodos descritos na literatura para análise de fipronil em matrizes variadas utilizam mais comumente como métodos de extração a extração líquido-líquido, extração em fase sólida, cromatografia de gel permeação e dispersão em matriz de revisão. Os métodos de extração citados anteriormente são realizados com manipulação direta do analista, o que pode levar a contaminações e perda de amostra. As separações com acoplamento de colunas, consideradas como um tipo de separação multidimensional e também chamadas de cromatografia em duas dimensões, inerentemente compatibilizam o preparo de amostras com a análise cromatográfica. Nesse tipo de abordagem a primeira coluna extrai e, então, o sistema direciona a fração da amostra contendo os analitos para a separação na segunda dimensão. Essa abordagem é confiável, robusta e mais barata que outras alternativas de automação. Para o desenvolvimento dos métodos cromatográficos através desta técnica, é necessário o conhecimento dos valores de tempo de depleção da matriz (tM), tempo de desligamento do analito (tA) e tempo de transferência (tT). O objetivo deste trabalho foi desenvolver e validar a metodologia analítica para quantificação do fármaco fipronil em plasma, por cromatografia líquida de alta eficiência em duas dimensões com detecção UV. Para a primeira dimensão foi utilizada coluna MAR LiChrospher. Palavras-chave: cromatografia 2D, matriz complexa.

MÉTODO BIOANALÍTICO PARA QUANTIFICAÇÃO SIMULTÂNEA DE EFAVIRENZ, LAMIVUDINA E TENOFOVIR EM PLASMA

Paula C. R. Enéas; Paula R. Chellini; Ricardo M. D. Byrro; Gerson A. Pianetti

*Departamento de Produtos Farmacêuticos, Faculdade de Farmácia, UFMG,
Av. Pres. Antônio Carlos, 6627, 31270-901 Belo Horizonte - MG, Brasil
paulafarma2004@yahoo.com.br*

A terapia antirretroviral para o tratamento da infecção pelo vírus da imunodeficiência humana consiste, usualmente, na combinação de três fármacos antirretrovirais, estratégia terapêutica conhecida como sendo altamente eficiente. Recentes estudos indicam que a combinação de efavirenz, lamivudina e fumarato de tenofovir desoproxila é imunologicamente e virologicamente eficaz, bem tolerada e segura. No presente trabalho, um método bioanalítico por CLAE com detecção por espectrometria de massas e ionização por electrospray no modo positivo foi desenvolvido para quantificação de efavirenz, lamivudina e tenofovir em plasma humano. Para extração dos fármacos no plasma, empregou-se o método de precipitação de proteínas utilizando acetoneitrila com 10% de hidróxido de amônio. A análise cromatográfica foi realizada utilizando coluna ciano (150 mm x 4,6 mm; 3,5 µm) e gradiente de fase móvel (ácido fórmico 0,05% e metanol). A quantificação dos fármacos foi realizada por padronização interna. A faixa de concentração estudada foi linear, abrangendo os intervalos de 200 a 10000 ng/mL para efavirenz, de 50 a 4000 ng/mL para lamivudina e de 100 a 1000 ng/mL para tenofovir. O método foi preciso, exato e não apresentou efeitos residuais e matriciais na quantificação dos antirretrovirais. O método bioanalítico desenvolvido pode ser aplicado em estudos de biodisponibilidade e bioequivalência, bem como no monitoramento terapêutico de pacientes em tratamento com a associação de efavirenz, lamivudina e fumarato de tenofovir desoproxila.

Agradecimentos: os autores agradecem a Fapemig e a Farmacopéia Brasileira pelo suporte financeiro.



EMPREGO DE POLÍMEROS DE IMPRESSÃO MOLECULAR RESTRITOS À LIGAÇÃO COM MACROMOLÉCULAS PARA A EXTRAÇÃO

Katrine Kyona Muniz Sirgom, Eduardo Costa de Figueiredo

*Laboratório de Análise de Toxicantes e Fármacos, Faculdade de Ciências Farmacêuticas,
Universidade Federal de Alfenas – UNIFAL-MG
katrinekyona@hotmail.com*

Um novo polímero de impressão molecular restrito à ligação com macromoléculas por meio de revestimento com albumina (RAMIP-BSA) foi desenvolvido, caracterizado e usado na análise direta de fármacos inibidores seletivos da recaptação de serotonina (ISRS) em plasma humano em um sistema de cromatografia líquida multidimensional. A síntese foi executada usando fluoxetina, ácido metacrílico e etileno glicol dimetacrilato como molécula modelo, monômero funcional e agente de ligação cruzada, respectivamente. Glicidil metacrilato e hidroxil metil metacrilato foram usados para promover o revestimento hidrofílico por meio do aumento de hidroxilas na superfície do material. O material obtido foi revestido com BSA, usando glutaraldeído como agente de ligação cruzada, resultando em uma cápsula proteica ao redor do mesmo. Quando o RAMIP-BSA é empregado na extração de fármacos em plasma sanguíneo, se a extração for executada em pH maior que o ponto isoelétrico das proteínas, as proteínas da amostra e do recobrimento do RAMIP-BSA permanecerão negativamente ionizadas, causando repulsão eletrostática entre ambas. Ao mesmo tempo, os analitos permeiam pelas cadeias do revestimento de BSA se ligando aos sítios de reconhecimento molecular presentes no núcleo (polímero de impressão molecular). A capacidade de eliminação de macromoléculas do RAMIP-BSA foi de ca. 99,52%, e os fatores de seletividade (em relação ao polímero não impresso de acesso restrito recoberto com BSA - RANIP-BSA) foram da ordem de 1,8 para fluoxetina (molécula modelo) em relação a outros ISRS. O RAMIP-BSA foi então empacotado em uma pré-coluna e usado para a análise direta de ISRS em plasma humano em um sistema de cromatografia líquida multidimensional empregando água com fase móvel de extração e tampão acetato de sódio 0,2 mol/L pH 4,5, acetonitrila e metanol, nas proporções de 60:37:3, v:v:v como fase móvel de separação. As curvas analíticas foram preparadas usando um pool de seis amostras de plasma humano (de indivíduos que não utilizam medicamentos) com concentrações de velanfaxina, citalopram, fluvoxamina, duloxetina, fluoxetina e sertralina variando de 20 a 500 µg/L. Paroxetina na concentração de 300 µg/L foi empregada como padrão interno. Os coeficientes de correlação e os limites de quantificação foram de >0,99 e 20 µg/L, respectivamente, para todos os fármacos analisados. A precisão e exatidão intra e inter-dias apresentaram coeficientes de variação menores que 15% e erros relativos entre -15 e 15%, respectivamente. A frequência analítica foi de 3/h (considerando o preparo de amostras e a análise cromatográfica) e a mesma coluna RAMIP-BSA foi usada por mais de 100 ciclos consecutivos e com a mesma performance. O sistema foi empregado na análise de ISRS em amostras reais de pacientes que usam continuamente os respectivos fármacos.

Agradecimentos - UNIFAL-MG, FAPEMIG, CNPq e CAPES.

SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE UM POLÍMERO MOLECULARMENTE IMPRESSO PARA DETERMINAÇÃO DE ENROFLOXACINO

Oliveira, H. L.¹; Silva, A. T. M.¹; Fonseca, M. C.¹; Silva, R. C. S.¹;
Mano, V.¹; Figueiredo, E. C.²; Borges, K. B.¹

¹Laboratório de Química Analítica, Universidade Federal de São João del-Rei

²Laboratório de Toxicantes e Fármacos, Universidade Federal de Alfenas

keyller@ufsj.edu.br

O enrofloxacino (ENRO) é uma fluoroquinolona utilizada como antibiótico especificamente em animais para tratamento veterinário. Sua administração é por via oral ou parentérica. A utilização desse antibiótico é indicada nos casos de infecções da pele, infecções do sistema respiratório e do sistema urinário. Sendo assim, variadas técnicas de preparo de amostras vem sendo amplamente utilizadas para aumentar as concentrações desse fármaco em amostras biológicas, como no caso da urina, e melhorar a resposta na técnica instrumental reduzindo o efeito de matriz e interferentes. Normalmente, utiliza-se na SPE cartuchos contendo fase estacionária C18, C8, entre outras, mas atualmente vê-se uma ampla e promissora utilização de polímeros molecularmente impressos (MIPs) em substituição as fases estacionárias citadas anteriormente. Isto se deve a uma maior seletividade dos MIPs pelos fármacos de interesse. Depois de otimizadas as condições de síntese, a preparação do MIP foi realizada misturando a molécula molde (ENRO), monômero funcional (ácido metacrílico), agente de ligação cruzada (etilenoglicoldimetacrilato) na proporção de 1: 4: 20 mmol e logo após, 84 mg de iniciador radicalar (2,2'-azo-bis-iso-butironitrila) na mesma mistura. A solução ficou por 10 minutos em ultrassom para melhor homogeneização, após foi deixada sob fluxo de nitrônio por 10 minutos e em seguida deixada por 24 horas em banho maria em aproximadamente 82°C para ocorrer a polimerização. O polímero obtido foi triturado e em seguida lavado diversas vezes para a retirada do ENRO, primeiramente com metanol: ácido acético (9: 1, v/v) e depois água. Após as lavagens, o MIP foi seco em estufa a aproximadamente 70°C. O polímero não impresso (NIP) foi preparado nas mesmas mesmas condições que o MIP, mas na ausência da molécula molde. O MIP e o NIP foram caracterizados utilizando a espectrometria de infravermelho (FT-IR), a qual apresentou espectros contendo bandas em 1638 cm⁻¹, característica de carbonos com hibridização sp², que provavelmente seja oriunda das insaturações nos reagentes que não reagiram. Além desta, bandas características de carbonila, em 1730 cm⁻¹, de hidroxila, em 3538 cm⁻¹ e C-O em 1262 e 1163 cm⁻¹ também foram observadas no espectro. Foram utilizadas também, a análise termogravimétrica (TGA) onde foi possível observar que em 315°C o material começou a se decompor; a calorimetria exploratória diferencial (DSC) e microscopia eletrônica de varredura (MEV). Estudos estão sendo realizados visando o desenvolvimento de um método de pré-concentração para determinação de ENRO por HPLC em fluidos biológicos.

Agradecimentos: CNPq, FAPEMIG, CAPES e Rede Mineira de Química.



QUANTIFICAÇÃO DE PROPILTIOURACIL EM PLASMA HUMANO UTILIZANDO CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA ACOPLADA À ESPECTROMETRIA DE MASSAS EM TANDEM: APLICAÇÃO A UM ESTUDO DE BIOEQUIVALÊNCIA

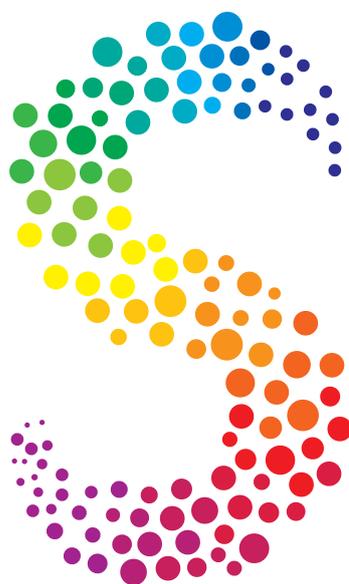
Samara F. Bittencourt^{1,2}, Tainah Babadópulos^{1,2}, André Arruda², Gilberto De Nucci^{1,2}

¹*Departamento de Farmacologia, Faculdade de Ciências Médicas,
Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, Brasil*

²*Galeno Desenvolvimentos de Pesquisas, Latino Coelho, 1301,
Parque Taquaral, Campinas, SP, Brasil
smr_favi@hotmail.com*

O presente estudo tem como objetivo o desenvolvimento de um método rápido, sensível e específico para quantificação de propiltiouracil em plasma humano utilizando metiltiouracil como padrão interno. O analito e o padrão interno foram extraídos do plasma por uma extração líquido-líquido utilizando um solvente orgânico, acetato de etila. Os extratos foram analisados por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas em tandem (CLAE-EM/EM). A cromatografia foi realizada utilizando uma coluna Phenomenex Gemini C18 5 μ m (4.6 x 150 mm ID) e uma fase móvel constituída por metanol/água/acetonitrila (40/40/20 v/v/v) + 0.1% de ácido fórmico. Para propiltiouracil e o padrão interno os parâmetros otimizados do potencial de decluster, energia de colisão e potencial de saída da célula de colisão foram, -60 V, -26 eV e -5 V, respectivamente. O método teve um tempo de corrida cromatográfica de 2.5 minutos e uma curva de calibração linear no intervalo de 20 - 5000 ng/mL. O limite de quantificação foi de 20 ng/mL. Os testes de estabilidade não indicaram nenhuma degradação significativa. Este método de CLAE-EM/EM foi utilizado para avaliar a bioequivalência de duas formulações de comprimidos de 100 mg de propiltiouracil em voluntários saudáveis de ambos os sexos em jejum e estado alimentado.

Agradecimentos: A Deus por sempre estar ao meu lado e mesmo nas horas mais difíceis iluminar o meu caminho. Ao Prof. Dr. Gilberto De Nucci pela oportunidade de aquisição de novos conhecimentos, paciência e exemplo de profissionalismo e inteligência. A toda minha família pelo suporte e exemplo de vida que me guiaram nessa conquista.



SEÇÃO B



USO DE POLÍMEROS MIPS PARA DETERMINAÇÃO DE COCAÍNA EM MATRIZES COMPLEXAS VIA HPLC-DAD

Viviane do Nascimento Bianchi*, Elizabete Campos de Lima

*Universidade Federal do ABC, Centro de Ciências Naturais e Humanas,
R. da Abolição, s/n, Bloco B Lab. 204, Santo André, Brasil, Cep 09210-170
vivi.nbianchi@yahoo.com.br*

O uso de polímeros de impressão molecular (MIPs) em sistemas de extração em fase sólida (MISPE) vem ganhando espaço para a determinação de fármacos em matrizes complexas. A extração em fase sólida é rotineiramente utilizada onde clean-up e pré-concentração de amostras são passos importantes do protocolo analítico a ser desenvolvido e aplicado. A aplicação de sistemas MIPs como fases extratoras permite não somente a pré-concentração e clean-up de amostra como também a extração seletiva do analito alvo, o que é extremamente importante quando falamos em matrizes complexas e impurezas que podem interferir na quantificação do analito de interesse. Os MIPs tem sido bastante utilizados em técnicas de separação devido propriedades que tem se mostrados vantajosas quando comparados com outros materiais, como por exemplo alto grau de seletividade, estabilidade química e térmica, fácil preparado e reprodutibilidade, além de propiciarem armazenagem por longos períodos. No presente trabalho diferentes rotas de síntese de MIPS foram estudadas, utilizando-se EDMA (etileno glicol dimetacrilato), 1,1'-Azobis-(ciclohexanocarbonotriila), cocaetilenos como template. Os polímeros obtidos foram caracterizados utilizando-se microscopia de varredura eletrônica, espectroscopia IV após confirmação via testes colorimétricos da presença do template. A remoção do template foi feita utilizando-se clorofórmio (3x5mL, sonicação 5min). Os extratos contendo o template foram analisados via HPLC. Para a realização das análises de cromatografia líquida de alta eficiência foi utilizado um UFLC Shimadzu 20AT, com injetor automático, sistema de degaseificação online, forno para coluna e detector DAD (arranjo de fotodiodos) com software de aquisição e análise de dados LC Solution versão 1.22 SP1. A coluna cromatográfica a utilizada foi uma C18 (4,6 mm x 150 mm x 5µm da Shimadzu). Os polímeros obtidos foram utilizados para a determinação de cocaína em amostras de rua apreendidas cedidas pela Polícia Científica de São Paulo. Os extratos MISPE obtidos foram analisados via HPLC mostrando alta seletividade para as análises efetuadas. Pretendemos utilizar os polímeros obtidos para a determinação de cocaína e seus metabolitos (cocaetilenos, benzoilecgonina) em amostras de esgoto doméstico na região do Grande ABC no estado de São Paulo na ETE Parque Andreense para estimar o uso de cocaína pela população dessa região. A partir dos dados obtidos será possível que as autoridades locais tomem medidas para prevenir e combater o uso de drogas de abuso.

Agradecimentos: a Fapesp (Processo 2010/20762-4) pelo financiamento do estudo.

PADRONIZAÇÃO DE UM MÉTODO PARA QUANTIFICAÇÃO DE ÁCIDO VALPRÓICO PLASMÁTICO POR HPLC.

Costa, A. C., Joaquim H.P.G., Talib, L.L., Gattaz, W.F.

Rua Ovídeo Pires de Campos, 785. Cerqueira César - São Paulo - SP- Brasil
costaalanac@gmail.com

Introdução: O ácido valpróico é o principal anticonvulsivante utilizado para controle de sintomas da epilepsia, também usado em distúrbios bipolares e na profilaxia da enxaqueca. Sua dosagem é útil para monitorização dos níveis terapêuticos (50 a 100 µg/mL) e toxicidade (>200 µg/mL). Alguns pacientes necessitam de níveis séricos superiores aos valores de referência para controle das convulsões. Seu metabolismo é hepático (95%), sendo que drogas que induzem o citocromo P-450 como carbamazepina, fenitoína, fenobarbital e primidona (medicamentos frequentemente associados para tratamento de epilepsia) reduzem seus níveis. Porém, a principal causa de níveis baixos é o não uso da medicação. O metabolismo também é dependente da idade, apresentando grandes variações individuais. O ácido valpróico aumenta os níveis de lamotrigina e fenobarbital. **Objetivo:** Padronizar o método para quantificar ácido valpróico por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). **Método:** A partir de 250 µL de plasma, fez-se uma extração líquido-líquido com adição de ácido sulfúrico 1M e n-hexano. Após isso, foi necessária uma etapa de derivatização com brometo de fenacila e trietilamina para permitir a detecção do ácido valpróico. O ácido octanóico foi utilizado como padrão interno (Pi) na concentração de 100 µg/mL. A fase móvel foi constituída por tampão fosfato de potássio 50mM, pH = 2,3 e acetonitrila (40:60 v/v), eluída a um fluxo de 1,5 mL/min. A coluna utilizada foi C18 e o comprimento de onda 210 nm. **Resultados:** O método se mostrou linear de 2 a 300 µg/mL de ácido valpróico. Os limites de quantificação e detecção foram 5 e 2 µg/mL, respectivamente. O tempo de retenção do ácido valpróico foi de 14,2 minutos e do Pi (ácido octanóico) de 15,5 minutos.

Agradecimentos: FAPESP pelo apoio financeiro.



VALIDAÇÃO DO MÉTODO BIOANALÍTICO DE XILAZINA E DETOMIDINA EM HPLC/MS

Borges, C. Martina; Pestana, C. Kelly; Peccinini, G. Rosângela

*Faculdade de Ciências Farmacêuticas UNESP Araraquara/SP – Rod. Araraquara-Jaú km 1
martinaborges@fctfar.unesp.br*

A xilazina e a detomidina são compostos altamente lipofílicos classificadas como sendo agonistas dos receptores adrenérgicos do tipo α^2 e apresentam propriedades analgésica, sedativa, tranquilizante e miorrelaxante. Esses efeitos são produzidos no complexo locus coeruleus no tronco cerebral e na medula espinhal, na qual leva a um profundo relaxamento muscular por causar inibição da liberação do neurotransmissor excitatório dos interneurônios espinhais. O uso associado dessas substâncias, deve-se ao maior efeito analgésico comparado a aplicação desses fármacos isoladamente. Foi desenvolvido e validado um método bioanalítico para a determinação de xilazina e detomidina em plasma por HPLC-MS/Ms. Os limites de confiança do método analítico foram determinados de acordo com a resolução da ANVISA RDC nº27, de 17 de maio de 2012. A detecção de massa foi realizada através de um instrumento triplo quadripolo (MS/MS), utilizando o monitoramento de reações múltiplas (MRM). Os íons foram gerados em modo de ionização positiva utilizando uma interface de eletro-spray. Os parâmetros utilizados foram: capilaridade 3,5kV, extrator 3V e colisão 18V, temperatura da interface 120°C e temperatura de dessolvatação 450°C para ambas as substâncias; e voltagem do cone 30V para a xilazina e 25V para detomidina e clonidina (usado como padrão interno). O fluxo de gás de dessolvatação (nitrogênio) foi de 800L/h. As transições monitoradas, obtidas a partir do MRM da xilazina foram m/z 221,2- 90, da detomidina foram m/z 187,2- 80,8 e para o padrão interno clonidina, foram m/z 230,05 -122. Foi utilizado equipamento HPLC Waters Alliance® com injetor automático, acoplado a um detector de massas Waters Micromass Quattromicro™. A separação dos compostos foram realizadas através de coluna Symmetry® C18 3,5µm 2.1 x 50 mm, com um fluxo de 0,3mL/min, fase móvel metanol 0,1% ácido fórmico e água ácida 0,1% ácido fórmico em modo gradiente, com um volume de injeção de 5µL em uma corrida de 15 minutos. O processamento da amostra foi feito pela basificação da matriz biológica com NaOH 2,5N seguida por extração com acetato de etila, submetido a secagem em rota evaporadora e ressuspenso com solução de fase móvel. O método bioanalítico desenvolvido neste trabalho atendeu aos requisitos necessários para ser aplicado na quantificação dessas substâncias em amostras de plasma, sendo linear, preciso, exato e sensível. A faixa de linearidade do método para xilazina foi de de 0,1 a 2,5µg/mL ($r^2=0,994$) e de 1 a 25ng/mL ($r^2=0,9983$) para a detomidina. Os resultados de precisão e exatidão indicam valores adequados de CV (inferiores a 15%) demonstrando repetibilidade e reprodutibilidade satisfatórias para a aplicação do método. Os valores de limite de quantificação e limite de detecção foram igualmente considerados satisfatórios para a aplicação do método para a quantificação das substâncias.

Agradecimentos: CAPES.

DETERMINAÇÃO DA GENTAMICINA EM PLASMA E LÍQUIDO SINOVIAL POR LC-MS/MS

Pestana, K. C. ; Borges, M.C.; Peccinini, R. G.

*Universidade Estadual Paulista – Campus de Araraquara - Faculdade de Ciências Farmacêuticas
kelly@fctfar.unesp.br*

Introdução: A osteomielite em cavalos é consequente de infecção das estruturas articulares. A gentamicina é um antibiótico aminoglicosídeo de amplo espectro, comumente utilizado na clínica veterinária para o tratamento de infecções musculosqueléticas. A manutenção de concentrações apropriadas no local da infecção é essencial para o sucesso do tratamento. **Objetivo:** O objetivo deste trabalho foi desenvolver e validar um método bioanalítico para a determinação de gentamicina em plasma e líquido sinovial por HPLC-MS/MS. **Metodologia:** O processamento das amostras foi feito pela acidificação da matriz biológica com HCl 10% seguida por precipitação de proteínas com MeOH. A detecção espectrométrica de massa foi realizada através de um instrumento triplo quadripolo (MS/MS), utilizando o monitoramento de reações múltiplas (MRM). Íons foram gerados em modo de ionização positiva utilizando uma interface de eletro-spray. Os parâmetros utilizados foram: capilaridade 3,5kV extrator 3V, temperatura da interface 120°C e temperatura de dessolvatação 450°C. O fluxo de gás de dessolvatação (nitrogênio) foi de 800L/h. Fase móvel constituída ácido fórmico a 0,1% e acetonitrila (20:80). A temperatura da coluna foi mantida em 30°C, fluxo da fase móvel 0,2mL/min, volume de injeção 20µL e tempo de corrida 5 minutos. A transição monitorada, obtida a partir do MRM da gentamicina foi m/z 478,3- 322,3. Para o padrão interno estreptomomicina, a transição monitorada foi m/z 582,0 -263,25. Os limites de confiança do método foram determinados de acordo com a resolução da ANVISA (RDC nº27, de 17 de maio de 2012) para a validação de métodos bioanalíticos. **Resultados:** A faixa de linearidade do método para foi de de 1,0 a 150µg/mL em plasma ($r^2=0,998$) e de 1,0 a 75µg/mL em líquido sinovial ($r^2=0,999$). Os resultados de precisão e exatidão indicam valores adequados de CV (inferiores a 15%) demonstrando repetibilidade e reprodutibilidade satisfatórias para a aplicação do método. Os valores de limite de quantificação e limite de detecção foram igualmente considerados satisfatórios para a aplicação do método em estudo de farmacocinética. Não foi observado efeito residual e nenhuma interferência das matrizes na resposta do analito. O fármaco apresentou estabilidade nas amostras biológicas por um período de até 6 horas quando mantidos em temperatura ambiente, por 24 horas após o processamento e também após 3 ciclos de congelamento e descongelamento. **Conclusão:** O método bioanalítico desenvolvido neste trabalho atendeu aos requisitos necessários para ser aplicado na quantificação do fármaco em amostras de plasma e líquido sinovial para análise farmacocinética, sendo linear, preciso, exato e sensível.



VALIDAÇÃO DE UM MÉTODO CROMATOGRÁFICO PARA QUANTIFICAÇÃO SIMULTÂNEA

Joaquim, H.P.G., Talib, L.L., Gattaz, W.F.

Rua Ovídeo Pires de Campos, 785- Cerqueira César. São Paulo-SP, Brasil

helenagiroud@usp.br

INTRODUÇÃO: Tendo em vista o alto índice de pacientes com quadros depressivos na atualidade e as tentativas de se otimizar o tratamento, faz-se necessário um método confiável e acessível para conseguir analisar o comportamento de alguns fármacos no organismo humano. Atualmente os antidepressivos mais prescritos são a fluoxetina (faixa terapêutica de 0,09 a 0,25 mg/L) e a clomipramina (faixa terapêutica de 0,2 a 1,1mg/L). Monitorar a reação e a toxicidade se torna necessário principalmente no caso de fármacos que possuem um limite terapêutico estreito, ou seja, em que a faixa terapêutica e a tóxica são, relativamente, próximas (Benkõ et al., 2007). A monitorização da concentração plasmática também é importante em estudos experimentais para estabelecer a relação entre essa concentração e a resposta terapêutica para diversos antidepressivos, ou seja, estabelecer um limite terapêutico (Schumacher, 1995; Malfará, 2007). Além disso, drogas são monitoradas para serem avaliados seus efeitos e para prevenir reações tóxicas em cada paciente, já que nem todos respondem da mesma maneira a certa dose ou período de intervalo entre as doses (Segatti et al., 1991). **OBJETIVO:** Validar um método de quantificação por HPLC das duas drogas mais utilizada como antidepressivos: fluoxetina e clomipramina, e ainda o metabólito desmetilclomipramina; por meio da padronização de um método de separação e quantificação ideal precedido por uma extração de fase líquida. Obtendo-se um método versátil, eficiente e acessível. **MATERIAL E MÉTODOS:** A análise foi realizada em plasma com heparina colhido de voluntários sadios não submetidos a qualquer tratamento no momento da coleta. Foi utilizada uma extração básica líquido-líquido, fase móvel acetonitrila: tampão acetato de sódio 0,75N pH 5,0 (6:4) em fluxo de 1mL/min. A separação foi em coluna select B, 250 x 4,6mm. Para a detecção utilizou-se UV comprimento de onda 230 nm. Na etapa de validação, foram avaliados os parâmetros: curva de calibração; limites de detecção (LOD) e de quantificação (LOQ); linearidade; recuperação; precisão e exatidão. **RESULTADOS:** O método mostrou-se linear para fluoxetina (0,9977), desmetilclomipramina (0,9992) e clomipramina (0,9996). O LOD foi 5ng/mL e o LOQ 25ng/mL. Tanto a precisão intra-ensaio quanto interensaio foram > 95% para todos os analitos; assim como a exatidão e recuperação.

Agradecimentos: FAPESP pelo apoio financeiro.

DETERMINAÇÃO DE ABAMECTINA E IVERMECTINA POR HPLC/DAD EM INSUMOS E EM FORMULAÇÕES FARMACÊUTICAS

Teixeira, L. S.; Faria, W. D.; Dutra, F. V. A.; Pires, B. C.; Borges, K. B.

Laboratório de Química Analítica, Universidade Federal de São João del-Rei
keyller@ufsj.edu.br

O padrão e a efetividade dos medicamentos veterinários têm originado grande preocupação especialmente em relação ao controle de qualidade e com isso ocasionado a realização de milhares de pesquisas mundialmente. O desenvolvimento de métodos analíticos eficazes e confiáveis para o controle de qualidade dos medicamentos comercializados é de suma importância, tornando-se fundamental o desenvolvimento de rotinas de análises que, além de servirem para este propósito, favoreçam sua implantação em comparação aos métodos existentes. Os insumos farmacêuticos representam o início da cadeia produtiva da indústria farmacêutica, portanto, o controle desses produtos é imprescindível. A qualidade desses insumos pode ser a diferença entre um produto ser eficiente ou não. Contudo, este trabalho teve como objetivo desenvolver um método empregando a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) com detecção por arranjo de diodos (DAD) para análise e quantificação das lactonas macrocíclicas abamectina e ivermectina em insumos farmacêuticos e em formulações farmacêuticas veterinárias. Visando a otimização do método de análise dos fármacos, foram avaliadas diferentes condições: Variação de coluna cromatográfica, composição e proporção dos solventes empregados na fase móvel, fluxo, temperatura, volume de injeção, dentre outros. As melhores condições cromatográficas obtidas foram: coluna Phenomenex® (250 x 4.60 mm, 5 µm), à temperatura de 25°C, sob condições isocráticas empregando 53% de acetonitrila/ 35% de metanol/ 12% de água, com vazão de 1,2mL/min, volume de injeção de 10 µL e detecção em 250 nm. Com essas condições obteve-se um resultado satisfatório, uma vez que foi possível separação simultânea das lactonas macrocíclicas abamectina B1a e B1b e da ivermectina B1a e B1b com um tempo de aproximadamente 15 minutos. O método desenvolvido apresentou boa seletividade, linearidade, precisão, exatidão e limites de detecção e quantificação, o que lhe permite o uso em análises rotineiras destes antiparasitários em formulações farmacêuticas.

Agradecimentos: CNPq, FAPEMIG, CAPES e Rede Mineira de Química.

CARACTERIZAÇÃO DE EMISSÕES VOLÁTEIS DE TINTAS IMOBILIÁRIAS EM BASE ÁGUA POR HS-SPME-GC/MS E PCA

D.A.V. Medina¹; L.M. Patinho²; G.M. Titato¹; F.M. Lanças¹; A.J. Santos Neto¹

¹Instituto de Química de São Carlos (IQSC/USP)

²Instituto de Arquitetura e Urbanismo (IAU/USP)

Avenida Trabalhador São-carlense, 400 - CEP 13566-590

deyber@iqsc.usp.br

Este trabalho foi realizado em conjunto ao grupo de pesquisa em Arquitetura, Tecnologia e Materiais do Instituto de Arquitetura e Urbanismo de São Carlos (IAUSC/USP), no marco do estudo da sustentabilidade na construção civil. Foram analisadas as emissões voláteis de sete tintas imobiliárias a base de água, atualmente comercializadas no Brasil, de diferentes marcas, preços e especificações técnico-ambientais. O estudo foi realizado tanto para as tintas frescas quanto para as tintas secas (48 horas após da sua aplicação). Os analitos foram coletados mediante microextração em fase sólida (SPME), por exposição da fibra durante 10 minutos a temperatura ambiente, ao headspace de um vial contendo 10 mg de tinta. Em todos os casos, os analitos foram pre-concentrados no headspace durante 24 horas. As amostras assim obtidas foram analisadas mediante cromatografia gasosa (GC, Coluna DB-5, 25 m, ID: 0.25 mm, FT: 0.25 µm) e caracterizadas por espectrometria de massas (MS, EI, 70 ev). Condições cromatográficas: injeção manual, temperatura do forno inicial de 35 °C (5 min) seguido de aquecimento a 10°/min até 260 °C. Foi estabelecida a presença inequívoca de compostos controlados como acetona, etilbenzeno, xileno, estireno e clorobenzeno, nas frações voláteis das tintas imobiliárias, a partir do monitoramento de seus íons característicos, em modo SIM e comparação dos tempos de retenção observados, com os obtidos para estes compostos quando seus padrões de referência foram injetados. 52 compostos adicionais foram presumivelmente identificados, por análise em modo Full scan e comparação dos espectros de massa obtidos com os disponíveis na biblioteca NIST mass spectral library (critério de coincidência superior a 90%). Acetona, etilbenzeno, xileno, estireno, 2,2-Dimetil-1-(2 Hidroxi-1 Isopropil)propil ester do ácido isobutanóico e ácido propanóico, 2-metil-, 3-hidroxi-2,4,4-trimetilpentil ester foram encontrados em todas as frações voláteis de tinta imobiliária analisadas. Finalmente, foram estabelecidos padrões de agrupamento entre as frações analisadas mediante Análise de Componentes Principais (PCA) da matriz de dados formada pelos quatorze cromatogramas de corrente iônica total (TIC), obtidos no modo full scan. Observou-se que, se bem, existem diferenças nos perfis cromatográficos obtidos para as frações voláteis de tintas de marcas comerciais, e os perfis de emissão das tintas frescas não apresentam mudanças significativas após a secagem.

Agradecimentos: CAPES-CNPQ-FAPESP.

NEW METHOD DEVELOPED FOR QUANTITATIVE ANALYSIS OF LOW TESTOSTERONE CONCENTRATIONS IN PLASMA

Kristine Van Natta¹, Marta Kozak¹, Angela De Pietro²

¹Thermo Fisher Scientific, San Jose, CA, USA;

²Nova Analítica São Paulo, SP, BR

angela.pietro@novanalitica.com.br

Analysis of testosterone in female and juvenile plasma samples for research requires an analytically sensitive method with a limit of quantitation of at least 10 pg/mL. Liquid chromatography coupled with mass spectrometry (LC-MS), an analytically sensitive and selective technique, is widely accepted for testosterone analysis in complex matrices such as human serum or plasma. In this study, a LC-MS method was developed and evaluated for the research analysis of low testosterone concentrations in human plasma. The LC-MS system used was a new triple quadrupole mass spectrometer that uses active ion management technology and provides high sensitivity, speed, and dynamic range. Plasma and serum samples were spiked with an internal standard (testosterone-D3) and subjected to liquid-liquid extraction method using methyl tert-butyl ether. The resulting organic layer was evaporated, and the residue was reconstituted in methanol/water (1:1). A 10 µL aliquot of processed sample was analyzed by LC-MS. Calibration standards were prepared in charcoal stripped serum (CSS) at concentrations in the range from 5 to 500 pg/mL. QC samples were prepared in CSS at 10 and 50 pg/mL. Intra-assay precision was obtained by processing and analyzing a standard curve along with three replicates of each QC sample. Inter-assay precision was obtained by processing and analyzing a standard curve along with three replicates of each QC samples on three different days. Matrix effects were evaluated by comparing peak areas of a 25 pg/mL sample prepared in CSS to a sample prepared in reconstitution solution. Matrix effects in different lots of plasma were evaluated by comparing the internal standard signal in donor plasma samples to the internal standard signal in solvent matrix. The observed limit of quantitation (LOQ) was 5 pg/mL, equivalent to 100 fg on column, which is lower than that reported with other research methods. The LOQ was limited by the presence of endogenous testosterone in CSS (about 1 pg/mL). Intra-assay precision was better than 3.4% RSD for the 10 pg/mL QC and 2.0% RSD for the 50 pg/mL QC. Inter-assay precision was 2.4% and 4.6% RSD for the 10 and 50 pg/mL QCs, respectively. Matrix effects in CSS were not observed. The average percentage recovery calculated against the spiked solvent was 94.8%. Limited matrix effects were observed in donor plasma. Internal standard signal in donor plasma was about 30% lower when compared to signal in solvent samples. The data show the developed method is sensitive and robust, and meets the requirements for testosterone research analysis in human plasma.



APLICAÇÃO DE EC-NCI-GC/MSMS PARA DOSAGEM DE PREGNENOLONA E 17-HIDROXIPREGNENOLONA EM SORO HUMANO

Thais Rodrigues Presutti; Karina Helena Morais Cardozo; Valdemir Melechco Carvalho

Grupo Fleury. Av. Gal. Valdomiro de Lima, 508. São Paulo/SP.

Programa de pós-graduação em Análises Clínicas da FCF/USP.

thais_rodrigues1@hotmail.com; valdemir.carvalho@grupofleury.com.br

Pregnenolona (PREG) e 17-alfa-hidroxipregnenolona (17OHPREG) são dois precursores esteroidais produzidos pela glândula adrenal. A dosagem desses compostos tem diversas aplicações clínicas como o diagnóstico de doenças relacionadas aos corticoesteróides e mineralocorticóides. Adicionalmente, a avaliação da atividade da enzima 3-beta-hidroxidesidrogenase, que promove a conversão de 17OHPREG em PREG, é importante no diagnóstico de um dos tipos de hiperplasia da glândula adrenal que causa defeitos severos na síntese de esteróides. PREG e 17OHPREG foram derivatizados com pentafluorobenzil hidroxilamina, purificados por HPLC e caracterizados por LC-MS/MS. Para análise por GC-MS/MS os derivados foram adicionalmente sililados por MSTFA. Foi utilizada a ionização química no modo negativo. Os íons precursores selecionados para os dois analitos foram os resultantes da perda na fonte de HF dos respectivos derivados. Duas transições de massas para cada analito foram selecionadas para a construção de um método baseado em SRM. O tempo de separação cromatográfico foi de 15 minutos. A cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas em tandem (LC-MS/MS) por sua alta seletividade e sensibilidade tem sido usada crescentemente na quantificação de esteróides. A LC-MS/MS superou as limitações intrínsecas dos imunoenaios como especificidade reduzida, necessidade de mais de uma metodologia para confirmação de resultado e procedimentos longos e trabalhosos para a obtenção dos resultados. A combinação desses aspectos favoráveis tornou a LC-MS/MS no padrão ouro para a determinação de hormônios esteroidais. Porém, no caso específico dos esteróides de tipo 3-hidroxi-5-eno, que apresentam baixa afinidade por prótons e, portanto, baixa eficiência de ionização, são necessárias muitas etapas para a conversão em derivados mais detectáveis. A técnica de GC-MS tem sido vista como antiga e limitada, mas essa interpretação é claramente equivocada. A eficiência cromatográfica da GC é ainda insuperável, principalmente na separação de formas isoméricas. Adicionalmente a incorporação da espectrometria de massas em tandem ao GC (GC-MS/MS) torna a técnica tão seletiva quanto LC-MS/MS. Os procedimentos padronizados para a extração dos analitos e derivatização para a análise são equivalentes aos empregados em metodologias equivalentes baseadas em LC-MS/MS. Apesar do potencial ainda pouco explorado da GC-MS/MS na determinação de hormônios esteroidais, os dados comprovam a aplicabilidade dessa técnica na rotina clínica.

Agradecimentos: Ao Grupo Fleury pelo apoio e financiamento.

HAPS EM SEDIMENTOS DA REGIÃO DO EMISSÁRIO SUBMARINO DE EFLUENTES DO DTSC - CANAL DE SÃO SEBASTIÃO/SP

Esperança Milanova Chaves, Karoline Riskalla Golfetto, Sílvio Miranda Prada* e
José Eduardo Bevilacqua

*Centro de Estudos Químicos - UNIFIEO - Centro Universitário FIEO.
Av. Franz Voegeli, 300, Bloco Branco, 4o. andar, CEP 06020-190, Vila Yara, Osasco, SP
smprada@unifieo.br*

Efluentes industriais e esgotos domésticos podem conter altas concentrações de hidrocarbonetos do tipo aromáticos policíclicos (HAPs) particulados e solúveis, e juntos com o escoamento superficial do solo e a deposição do ar, representam as principais fontes de HAPs de elevadas massas moleculares para o ambiente aquático. No corpo d'água, estas espécies tendem a se depositar nos sedimentos, e a partir deles os produtos tóxicos podem ser transferidos para os organismos que habitam essa região. No Canal de São Sebastião, no litoral norte do Estado de São Paulo, encontra-se instalado um dos maiores terminais petrolíferos do Brasil, o Duto e Terminais Centro Sul (DTCS) da PETROBRÁS. O DTCS possui um emissário submarino de efluentes projetado para efluentes líquidos tratados, gerados na drenagem dos fundos dos tanques de petróleo e navios, e para águas pluviais e industriais contaminadas com óleo. Considerando isso, o presente trabalho tem por objetivo avaliar as concentrações de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HAPs) nos sedimentos da região circunjacente ao emissário submarino do DTCS, no intuito de obter subsídios da eficiência no tratamento dos efluentes industriais deste terminal, ou um possível impacto ambiental que os mesmos possam estar causando à biota do Canal de São Sebastião. Para tal, foram coletadas 10 amostras de sedimento com pegador tipo Petersen, em uma rede amostral do tipo círculo crescente, na área de influência direta do efluente, e outros 2 pontos ao longo do Canal de São Sebastião (CSS). Para a determinação cromatográfica dos 16 congêneres de HAPs utilizou-se um cromatógrafo líquido de alta eficiência (HPLC) VARIAN, modelo 9012Q, com coluna de fase reversa Nucleosil 100-5 C18 PAH em aço inoxidável – 150mm×4mm, partícula de 5 µm; pré-coluna: Lichrospher 100 RP-18 4mm×4mm, partícula de 5 µm. Utilizou-se detector de fluorescência. As condições de análise foram de acordo com o método USEPA 8310. Os resultados obtidos mostraram que as concentrações dos 16 congêneres de HAPs avaliados ficaram abaixo dos limites de quantificação da técnica utilizada para os pontos 2, 5 a 10, além de os dois pontos afastados da região de influência dos efluentes no CSS. Os sedimentos dos pontos 1 e 3 apresentaram concentrações de Fluoreno (24,8 e 22,4 µg/kg, respectivamente), Antraceno (292 e 190 µg/kg) e Dibenzo(a,h)Antraceno (100 e 75,9 µg/kg) acima dos valores limite de toxicidade de ISQG (ENVIRONMENTAL CANADA, 2002). Já o ponto 4 apresentou valores de concentração de Fenantreno (110,4 µg/kg), Fluoranteno (328,9 µg µg/kg), Pireno (220,3 µg/kg), Benzo(a)Antraceno (121,5 µg/kg), Criseno (217,3 µg/kg), Benzo(a)pireno (µg/kg) e Dibenzo(a,h)Antraceno (23,26 µg/kg) acima dos valores limite de toxicidade de ISQG. Conclui-se, portanto, que eventualmente estes compostos podem causar algum efeito adverso à biota desta região do Canal de São Sebastião.

Agradecimentos: CETESB pela coleta das amostras de sedimento e PIC/FIEO.



DETERMINAÇÃO DE VOCS E SVOCS POR CG/MS EM SEDIMENTOS DA BAÍA DE LUANDA, ANGOLA

Sílvio M. Prada^{1*}, Eliana L.C. Aragão¹, José E. Bevilacqua¹, Karen C. de Oliveira²

¹Centro de Estudos Químicos - UNIFIEO - Centro Universitário FIEO

²Ecolabor Comercial Consultoria e Análises LTDA

smprada@unifieo.br

A Baía de Luanda, situada na província de Luanda, capital de Angola, tem cerca de 11 km de extensão, sendo um porto natural onde se desenvolvem as principais atividades econômicas do País. Localizada no centro da Cidade, que possui mais de 5 milhões de habitantes, a mesma recebe diversos tipos de resíduos de diferentes fontes de poluição, como esgotos domésticos e industriais, e os resíduos das docas, navios e barcos ancorados ao longo da Baía. Dentre os contaminantes que podem ser introduzidos no sistema marinho por estas fontes de poluição destacam-se diversos tipos de compostos orgânicos com elevado potencial tóxico à biota marinha, que podem se associar aos sedimentos. Considerando isso, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos da poluição gerada pelas atividades antrópicas na Baía de Luanda, quanto às concentrações de compostos orgânicos voláteis (VOCs) e semivoláteis (SVOCs), em um estudo inédito nesta importante região litorânea da costa Angolana. Para tal, em agosto de 2012, amostras de sedimento foram coletadas com amostrador tipo Petersen, em 18 pontos criteriosamente selecionados ao longo da Baía de Luanda, e outros 3 pontos na contracosta com pouca influência antrópica. A determinação dos VOCs foi realizada pela técnica de cromatografia em fase gasosa (GC), utilizando-se um cromatógrafo à gás Agilent, modelo 7890A, com coluna capilar DB-VRX (20,0m x 0,180mm x 1,00um de filme), acoplado a um detector de espectrometria de massas (MS) Agilent, modelo 5973 e um amostrador tipo headspace, modelo G1888. As condições de análise foram embasadas nos métodos normatizados USEPA 8260C e 5021A. Para determinação dos SVOCs usou-se o cromatógrafo à gás Agilent, modelo 7890A, com coluna capilar FactorFour (30m x 0,25mm x 0,5um + 10m EZ-Guard), com amostrador automático Agilent, modelo 7683B, acoplado ao detector de espectrometria de massas (MS) Agilent, modelo 5973. Neste caso as condições de análise foram embasadas nos métodos USEPA 8270B e 3550C. Os resultados obtidos mostraram que para as determinações de VOCs nos sedimentos dos 21 pontos de coleta selecionados, as concentrações dos 65 compostos avaliados ficaram abaixo dos limites de quantificação da técnica empregada no presente trabalho. No caso das análises de SVOCs, dos 121 compostos avaliados nos sedimentos dos 21 pontos de coleta, encontraram-se concentrações acima dos limites de quantificação para fenol nos pontos 5, 10 e 12 (2,70; 208 e 20,7 ug/kg, respectivamente), m+p-cresol no ponto 10 (84,6 ug/kg); Di-n-butilftalato em oito pontos variando de 9,77 a 33,0 ug/kg, e de Bis(2-etilhexil)Ftalato em praticamente todos os pontos, salvo para os pontos 3, 4 e 20. As concentrações desta substância variaram de 10,6 ug/kg no ponto 16 a 474 ug/kg no ponto 6. Tais resultados confirmam a ocorrência de atividade antrópica na região, de natureza difusa, mas também que a região não apresenta elevados níveis de contaminação.

Agradecimentos: À Polícia Fiscal Marítima e Instituto de Investigação Pesqueira de Angola e PIC/FIEO.

MÉTODO E SEPARAÇÃO ISOMÉRICA DA TIAZOLIDINODIONA LPSF/ LYSO-07 POR UPLC E ESPECTROMETRIA DE MASSAS

Elias Carvalho Padilha, Michel L de Campos, Adriel Martins, Álvaro Santos Neto,
Ivan da Rocha Pitta, Rosângela Peccinini

Faculdade de Ciências Farmacêuticas - UNESP/Araraquara
Universidade Federal de Pernambuco
Universidade Federal de São Carlos
eliascarvalho@gmail.com

As tiazolidinodionas (TZDs) são fármacos agonistas do receptor PPAR- γ (peroxisome proliferator activated receptor) cuja ativação leva a modulação de cerca de 100 genes, o que confere a esta classe de fármacos diversas ações no organismo como o controle de glicemia, do colesterol e atividade anti-inflamatória. Entre as TZDs que foram lançadas no mercado apenas a pioglitazona permanece disponível uma vez que suas antecessoras -rosiglitazona e troglitazona - apresentaram alta toxicidade. Considerando o vasto potencial terapêutico das TZDs, pesquisadores do Laboratório de Planejamento e Síntese de Fármacos da Universidade Federal de Pernambuco sintetizaram a LYSO-07 ((5-(5-bromo-1H-indol-3-metileno)-3-(4-cloro-benzil)-tiazolidina-2,4-diona), um derivado tiazolidino-2,4-diona cujos ensaios de atividade biológica demonstraram que a nova TZD possui atividade anti-inflamatória promissora. A molécula apresenta isômeros geométricos que foram separados por UPLC-UV e tiveram suas massas identificadas por espectrometria de massas em MicrOTOF-Q II acoplado ao UHPLC UltiMate 3000 RSLC da Thermo Scientific / Dionex. Foram avaliadas 3 tipos de fase estacionária - BEH, CSH e HSS - e diferentes fases móveis para a separação dos isômeros. Foi obtida uma resolução de 2,015 entre os picos. O sistema cromatográfico foi acoplado ao MicrOTOF-Q II e os compostos apresentaram as mesmas massas e perfil de fragmentação semelhante, além de espectro UV, realizado por DAD. O método foi validado com extração do fármaco de matriz biológica de acordo com os critérios da ANVISA e a quantificação foi realizada utilizando a soma das áreas dos 2 picos como total de LYSO-07 na amostra. O método foi aplicado com sucesso em estudo de farmacocinética em ratos Wistar que receberam o fármaco pela via intravenosa.

Agradecimentos: FAPESP, INCT-if.



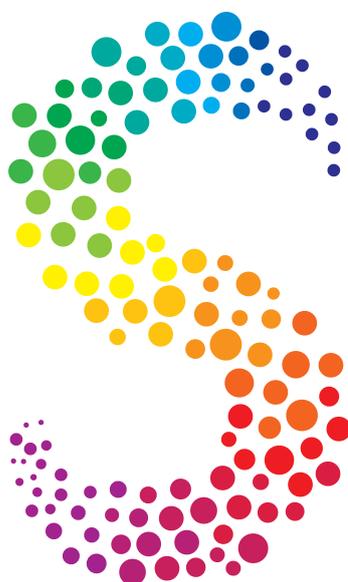
A VERY SIMPLE AND FAST METHOD FOR QUANTIFICATION OF TEMOZOLOMIDE IN HUMAN PLASMA BY LC-MS/MS

Pastre, K.I.F.; Galvinas, P.A.R.; Guimarães, C.L.; Araújo Jr., K.P.;
Amorim, O.C.M.; Watanabe, C.; Paoleschi, L.A.A.

MAGABI Pesquisas Clínicas e Farmacêuticas Ltda.
Rodovia Pres. Castello Branco, km 35,6 - Itaquí - Itapevi/SP - Brasil
katia.pastre@magabi.com.br; camila.guimarae@magabi.com.br

Objective: Develop an analytical method for determination of temozolomide in human plasma, by exploring the sensitivity of API5000 spectrometers, using a simplest sample preparation and a fastest analytical run. **Method:** Dacarbazine was used as internal standard (IS). The transitions 195.1>138.0 (temozolomide) and 183.1>166.1 (IS) were monitored in the MRM mode, using a triple quadrupole mass spectrometer (ABSciex, Canada, model API5000), which is equipped with an electrospray source, in positive ionization mode. The chromatography was performed in an analytical column Phenomenex, Synergi, Polar RP, 4µm, 80Å (4,6x50mm), using as mobile phase methanol/water + ammonium acetate 10mM + acetic acid 17mM (40/60, v/v) with flow rate of 1,0 mL/min. The retention times were 1.3 min for temozolomide and 1.1 min for IS. The total analytical run time was 3.5 min. The samples were previously spiked with IS, diluted 160 times with 17mM acetic acid solution and 5 µL were injected into the HPLC system (Symbiosis Pharma, Spark Holland, The Netherlands). **Results:** The lower limit of quantification (LLOQ) was 100 ng/mL (625 pg/mL, after dilution). The linearity was achieved in a range of 100 to 10000 ng/mL. Three validation batches were performed; each one was composed by six LLOQ samples and more six quality control samples at three different concentration levels: 300 ng/mL, 4000 ng/mL and 8000 ng/mL. The inter-batch results for precision and accuracy were lower than 10%. The method was specific and selective with a plasma interferente at 3.2 minutes. No ion suppression was observed and the matrix effect was less than 15%. **Conclusion:** The high sensitivity of the MS system let us to developed and validated this bioanalytical method in the simplest way: no extraction needed and it was injected a very low volume of sample into HPLC system. The method herein reported showed to be very robust and it was used for routine. All current bioanalytical method validation requirements (FDA and ANVISA) were achieved and it was applied to the bioequivalence study.

Special Thanks to MAGABI Technical, Quality Assurance and Administrative Departments.



SEÇÃO C



DEVELOPMENT AND VALIDATION OF A METHOD TO DETERMINE THIOMERSAL BY HPLC IN BIOLOGICAL PRODUCTS

Nicolás A. Muñiz, Mónica E. Lammer, Graciela B. Torres, Maria Luisa Brero

Centro Nacional de Control de Calidad de Biológicos, A.N.L.I.S. "Dr. Carlos G. Malbrán",

Avenida Velez Sarsfield 563, C.A.B.A., Buenos Aires, Argentina

nicolás.a.muniz@gmail.com

mlammer@anlis.gov.ar

Thiomersal (also known as thimerosal and merthiolate) is an organomercurial derivative of ethylmercury that has been used extensively over many years as a preservative in vaccines. Its primary purpose is preventing microbial growth in the product during storage and use, as well as to inactivate certain organisms and toxins during production. There are some methods described in the literature to analyze thiomersal, but they do not include HPLC thiomersal determination, so this new method was developed and validated. The aim of this work was to develop and validate a simple, sensitive and accurate HPLC method for the quantitative analysis of thiomersal in vaccines. For the method development HPLC Dionex equipment was used with an analytical binary pump LPG-3400AB, a thermostated column compartment TCC-3000SD, a photodiode array detector MWD-3000 and a manual injection valve Rheodyne 9725i. The mobile phase used was Methanol:Water (65:35), adjusted to pH 2.5 with orthophosphoric acid. The column used was Beckman Coulter C18 (150x4.6 mm). The analysis was performed at a wavelength of 226 nm and a flow rate of 0.600 mL.min⁻¹. The validation parameters were determined according to the Organismo Argentino de Acreditación (OAA). According to the analysis, the method demonstrated good results with linear response in the concentration range of 20 to 100 µg.mL⁻¹ (r=0.9991). Inter-days relative standard deviation was 1.4881% and between analysts was 0.3579%, this shows the precision of the proposed method. The accuracy was 99.07% with a relative standard deviation of 0.59%. The robustness was confirmed making variations in the injection volume, methanol manufacturers, flow rates, temperatures, mobile phase pH and wavelengths obtaining good results. The data and the analysis obtained demonstrated that this method can be useful for quantitative analysis of thiomersal in vaccines. This method offers advantages in speed, simplicity, security and costs.

Acknowledgements: Lic. Marta Graciela Mazza.

ESTUDOS PRELIMINARES COM O EXTRATO DE PINUS PINASTER EMPREGANDO CLAE/DAD

Almeida, P.A. de; Alves, M.C.; Ferreira, A. de O.; Raposo, N.R.B.; Brandão, M.A.F.

Núcleo de Pesquisa e Inovação em Ciências da Saúde (NUPICS), Universidade Federal de Juiz de Fora, MG

Ortofarma, Laboratório de Controle de Qualidade, MG

priufffalmeida@hotmail.com

O extrato seco obtido da casca de *Pinus pinaster* é constituído por uma mistura de flavonoides, principalmente procianidinas, representadas por monômeros e oligômeros de catequina e epicatequina, além de ácidos fenólicos, ácidos cinâmicos e seus glicosídeos e taxifolina. Apesar de comercializado, seu controle de qualidade é incipiente, principalmente devido à complexidade de sua composição química. Assim, o objetivo deste trabalho foi realizar análises de perfis cromatográficos do extrato empregando cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por arranjo de fotodiodos (CLAE/DAD), com a finalidade de estabelecer uma técnica analítica que permita a separação e identificação dos marcadores de interesse. Para tal, foi empregado o extrato da United States Pharmacopeia (USP, USA, lote: FOK092), cuja constituição química é conhecida. Como padrões analíticos foram empregados ácido gálico (Sigma, USA, lote: 010M0066), catequina (Sigma, Brasil, lote: BCBL6259V), ácido ferúlico (Henrifarma, Brasil, lote: 028832/12) e taxifolina (Sigma, Brasil, lote: BCBK3782V). Todos os solventes utilizados foram de grau CLAE e a água foi ultrapurificada. As amostras foram filtradas em filtros de celulose regenerada 0,45 µm antes da injeção. As melhores condições de separação foram obtidas realizando eluição por gradiente com dois sistemas de solventes: (A) 0,1% de ácido fórmico em acetonitrila e (B) 0,1% de ácido fórmico em água, conforme segue: 0-50 min, gradiente linear a partir de 6 até 20% de A; 50-55 min, gradiente linear a partir de 20 até 4% de A; 55-60 min, mantido em 4 % de A; 60-62 min, gradiente linear a partir de 4 até 6% de A; 62-67 min, mantido em 6% de A. O fluxo empregado foi 1 mL/min. Dentre os ácidos testados (ácido fosfórico, ácido fórmico e ácido acético), optou-se por utilizar o ácido fórmico em função da obtenção de picos cromatográficos mais simétricos e, dentre os solventes orgânicos testados (metanol e acetonitrila), obteve-se melhor separabilidade com a acetonitrila. As colunas cromatográficas de tamanho 250 x 4,6 mm, com 5 µm de tamanho de partícula, proporcionaram melhor separabilidade em relação às colunas de 150 x 4,6 mm, com o mesmo tamanho de partícula. Em adição, as colunas de recheio octadecilsilano (C18) conduziram a melhores separações do que aquelas de octil (C8). As condições cromatográficas adicionais foram: temperatura do forno em 40°C, detecção em 280 nm e volume de injeção igual a 20 µL. A análise de extrato comercializado no Brasil por comparação de perfil cromatográfico com o extrato USP, evidenciou que tal extrato comercial não se encontra dentro dos parâmetros de qualidade exigidos.

Agradecimentos: Ao Programa de Pós-graduação em Saúde Brasileira (PPGsaúde/UFJF), à FAPEMIG e à PROPG/UFJF.



DETERMINAÇÃO SIMULTÂNEA DE TUBERCULOSTÁTICOS DE PRIMEIRA ESCOLHA EM FORMULAÇÃO FARMACÊUTICA POR CLAE

Paula R. Chellini; Eduardo B. Lages; Isabela da C. César; Gerson A. Pianetti

*Laboratório de Controle de Qualidade, Faculdade de Farmácia,
Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte - MG, Brasil
paulachellini@yahoo.com.br*

De acordo com a Organização Mundial de Saúde, a tuberculose tem sido um dos maiores problemas na área de saúde. No Brasil, em 2013, foram registrados 71.123 novos casos da doença (incidência de 35,4 casos para cada 100 mil habitantes). Desde 2010, o tratamento para tuberculose consiste na administração de quatro comprimidos de dose fixa combinada de rifampicina (RIF), isoniazida (INH), pirazinamida (PZA) e cloridrato de etambutol (ETB). O tratamento com vários fármacos combinados é necessário para a cura do paciente sem recidiva e para prevenção de cepas resistentes, o que pode ocorrer durante o tratamento. A monografia USP sugere dois métodos diferentes para a análise dos quatro fármacos: um quantifica a RIF, INH e PZA e o outro o ETB individualmente. Um método por CLAE-DAD para a determinação simultânea dos quatro fármacos em comprimidos de dose fixa combinada foi desenvolvido e validado. As análises foram executadas em um sistema cromatográfico Agilent® 1200 e a separação foi realizada em uma coluna analítica Lichrospher® 100 RP18e (250 x 4 mm, 5 µm, Merck). A eluição foi realizada em gradiente com uma fase móvel constituída por tampão fosfato de sódio monobásico 20 mM com 0,2% de trietilamina (pH 7,0) (A) e acetonitrila (B). O tempo total de corrida foi de 11 min e o tempo de reequilíbrio foi de 7 min. O fluxo foi de 1,5 mL/min e o volume de injeção de 25µL. O ETB foi detectado em 210 nm e a RIF, INH e PZA foram detectadas em 238 nm, utilizando detector de arranjo de diodos (DAD). O método foi validado de acordo com a legislação brasileira Resolução RE 899 de 2003 da ANVISA e diretrizes do ICH. O método mostrou seletividade, uma vez que foi observada sobreposição dos espectros das soluções padrão e amostra. Os coeficientes de correlação linear para RIF, INH, PZA e ETB foram maiores que 0,99, atestando a linearidade. O método mostrou repetibilidade (DPR = 1,88% para RIF, 1,72% para INH, 0,93% para PZA e 0,22% para ETB) e precisão intermediária (DPR = 1,80% para RIF, 1,67% para INH, 1,21% para PZA e 1,96% para ETB) adequadas. A exatidão foi avaliada por meio da adição de padrão. As recuperações obtidas para todos os quatro analitos foram cerca de 100,0% em três níveis (90%, 100% e 110%). O método apresentou robustez em relação às variações de fornecedor de acetonitrila, temperatura da coluna, fluxo e sistema cromatográfico. O método para a determinação simultânea de RIF, INH, PZA e ETB em comprimidos de dose fixa combinada mostrou-se seletivo, linear, preciso, exato e robusto e pode ser aplicado no controle de qualidade de formulações farmacêuticas. O método desenvolvido reduz o número de soluções (tampões, diluentes, padrões e amostras) a serem preparadas, minimiza os custos com coluna e solvente orgânico, além de diminuir o tempo gasto no preparo e execução das análises. Além disso, o método é uma alternativa interessante para ser empregado em testes de dissolução.

Agradecimentos - À CAPES, FAPEMIG e Farmacopeia Brasileira pelo apoio financeiro.

PLANEJAMENTO RACIONAL EM CLAE: ANÁLISE DA CONVERSÃO DE N-ACILIDRAZIDAS EM N-ACILIDRAZONAS CINÂMICAS

Soares, Marcio*; Mazzei, José L.; Bandini, Thiago B.;
Carvalho, Samir A.; da Silva, Edson F.; Fraga, Carlos A. M.

*Instituto de Tecnologia em Fármacos–Farmanguinhos–FIOCRUZ
Programa de Pesquisa em Desenvolvimento de Fármacos–Instituto de Ciências Biomédicas–UFRJ*

* msoares@far.fiocruz.br

Um dos grandes desafios na pesquisa e desenvolvimento de novos fármacos é a prática de sistemas concisos de caracterização na avaliação das conversões químicas, que possam atender a complexidade pelas diferentes moléculas envolvidas, sem perder a seletividade e eficiência de separação exigidas. Ao simplificar o sistema de qualidade selecionado, tempo e custo são racionalizados na etapa de pesquisa básica e/ou inovação de componentes bioativos. No caso de métodos de análise de substâncias ionizáveis por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência em Fase Reversa (CLAE-FR), planejamentos racionais baseados na estruturas químicas, envolvendo a previsão do Log P e o perfil de ionização das substâncias principais, são satisfatoriamente aplicados para a previsão do comportamento de retenção. No presente trabalho um sistema em CLAE-FR foi planejado para a caracterização da conversão de cinco novas N-acilidrazonas cinâmicas, obtidas através da reação de N-acilidrazidas com benzaldeídos substituídos (com grupos hidróxi ou metóxi). Os derivados N-acilidrazônicos, alvos do presente estudo, possuem excelente atividade tripanocida e baixo perfil citotóxico. Dois desses derivados (PHID24) e (PHID29) foram duas vezes mais potentes que o fármaco de referência Benzonidazol contra a forma tripomastigota do *Trypanosoma cruzi*. A estimativa dos respectivos Log P e pKa dos reagentes e produtos foram estimados aplicando o software MarvinSketch versão 6.3.0. A seguinte ordem de eluição das classes em CLAE-FR foi prevista em pH neutro: N-acilidrazidas ($\log P < 1,4$), derivados benzaldeídos ($1,2 < \log P < 2,1$) e as N-acilidrazonas cinâmicas ($\log P > 2,7$). Os produtos das reações e respectivos reagentes foram caracterizados em CLAE-FR com detecção por arranjo de fotodiodos. Varredura selecionada em 210-450 nm a 1 nm de resolução e monitoramento no máximo do espectro. Coluna Supelcosil LC-18 200 x 4,6 mm x 3 μm conectado a pré-coluna Supelguard LC-18 2 cm e a fase móvel consistiu de acetato de amônio 25 mmol/L pH 5,8 (A) e metanol (B). Eluição gradiente foi programada em vazão de 1,0 mL/min a 30°C: 0-10min, 5%B; 10-30 min, 5-95%B; 30-50 min a 95%. Amostras foram injetadas a 1 mg/mL em metanol, após agitação em vórtex, sonicação por 10 min e filtração em membrana PVDF 0,22 μm . A fase móvel foi planejada de modo a manter uma retenção relativa e ionização diferenciada para cada classe das substâncias envolvidas: as N-acilidrazidas parcialmente ionizadas, os derivados benzaldeídos na forma molecular (> 90%) e as N-acilidrazonas na forma ionizada (> 90%). Com isso, houve menor retenção dos produtos desejados. O sistema foi satisfatoriamente aplicado para acompanhar as conversões nas reações planejadas com boa retenção ($k' 11,6 - 14,3$), resolução (RS 4,3-27,2) e eficiência (N 100.000-750.000) entre as espécies de cada reação, permitindo caracterizar a conversão e a qualidade das N-acilidrazonas cinâmicas.

Agradecimentos: RPT-PDTIS-FIOCRUZ.



DESENVOLVIMENTO E OTIMIZAÇÃO DE MÉTODO ANALÍTICO PARA DETERMINAÇÃO DE SALBUTAMOL EM AEROSSOL

Ana Carolina Guimarães Ribeiro, Taízia Dutra Silva, Cristina Duarte Vianna Soares

*Laboratório de Controle de Qualidade, Departamento de Produtos Farmacêuticos,
Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG
ana.guimaraes@globo.com*

Os procedimentos analíticos para avaliação da qualidade físico-química de medicamentos aerossóis são pouco difundidos no cenário farmacêutico de controle de qualidade, diante da peculiaridade de alguns testes como a distribuição aerodinâmica de partículas, o doseamento e a uniformidade de dose liberada. A baixa concentração de fármaco por dose em medicamentos aerossóis (em torno de 100 µg) dificulta sua quantificação sobretudo em testes de uniformidade, uma vez que a tomada de amostra do ativo corresponde a uma única dose. Diante disso, nesse trabalho desenvolveu-se e otimizou-se um método analítico por CLAE em fase reversa com detecção suficiente para a quantificação de salbutamol aerossol. Como ferramenta para acelerar esse desenvolvimento realizou-se um planejamento experimental do tipo matriz Doehlert utilizando as variáveis mais significativas que foram fluxo, composição da fase móvel e proporção de solvente orgânico na fase móvel em níveis de variação 5, 7 e 3, respectivamente. Visto que os pontos críticos do método cromatográfico são o baixo sinal de resposta, devido à baixa concentração e o baixo tempo de retenção (tr) do analito, devido à sua baixa hidrofobicidade, o objetivo com a otimização foi alcançar uma maior retenção e um maior número de pratos teóricos (N) do pico correspondente ao salbutamol. Para isso, construiu-se uma superfície de resposta das variáveis em função do N do pico cromatográfico correspondente ao salbutamol para a obtenção do ponto ótimo. O valor de N otimizado (4306) para o pico correspondente ao salbutamol foi alcançado com uma coluna C18 de dimensões 100 x 4,6 mm, tamanho de partícula 3,5 µm, temperatura do forno 25 °C, fase móvel constituída por Solução de acetato de amônio 0,1 % (p/v):Acetonitrila (78:22) e fluxo 0,6 mL/min.

Agradecimentos - CNPq, FAPEMIG, Pharmascience Laboratórios, CEDAFAR-UFMG.

COMPARAÇÃO DE COLUNAS C18 NA SEPARAÇÃO DE TUBERCULOSTÁTICOS DE PRIMEIRA ESCOLHA POR CLAE-UV

Pedro H.C. Franco; Paula R. Chellini; Isabela C. César; Gerson A. Pianetti

*Laboratório de Controle de Qualidade, Faculdade de Farmácia,
Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais
pedrofrancobh@gmail.com; paulachellini@gmail.com*

De acordo com a Organização Mundial da Saúde, a tuberculose acompanha a humanidade por milhares de anos e tem sido um dos maiores problemas na área da saúde. No Brasil, em 2013, registrou-se 71.123 novos casos de tuberculose (incidência de 35,4 casos/100 mil hab.). Desde 2010, o tratamento para tuberculose consiste em dois meses de tratamento com comprimidos de dose fixa combinada (DFC) contendo rifampicina (RIF), isoniazida (INH), pirazinamida (PZA) e cloridrato de etambutol (ETB), seguidos de quatro meses de tratamento com RIF e INH. O tratamento com vários fármacos combinados se torna necessário para a cura do paciente sem recidiva e para prevenção de cepas mutantes fármaco resistentes, o que pode ocorrer durante o tratamento. Dessa forma, um método cromatográfico para determinação simultânea dos quatro fármacos em comprimidos de DFC foi desenvolvido e validado. As análises foram realizadas em cromatógrafo Agilent 1200 provido de detector de arranjo de diodos. A eluição foi feita em gradiente, utilizando diferentes proporções de tampão fosfato de sódio monobásico monohidratado 20 mM com 0,2% de trietilamina pH 7,0 (A) e acetonitrila (B). O fluxo foi de 1,5 mg/mL e o volume de injeção foi de 25 µL. Foram avaliadas duas colunas octadecilsilano de 250 x 4,6 mm id., 5 µm da Merck: Lichrospher® 100 RP-18e e Purospher® STAR RP-18e. Ambas, apesar de apresentarem o mesmo grupo ligante, têm algumas diferenças. A coluna Lichrospher® possui uma carga de carbono de 21,0% e tamanho de poro de 10 nm e a Purospher® STAR 17% de carbono e 12 nm. A faixa de pH de utilização das duas colunas também se difere: a primeira tem a capacidade de trabalhar no intervalo de 2 a 7,5 e a segunda de 1,5 a 10,5. Além disso, a coluna Purospher® STAR é composta por sílica com alto índice de pureza e quantidades mínimas de alguns metais. Para a comparação das duas colunas foram avaliados o fator de retenção (k) dos picos, a resolução (R_s), o fator de cauda (T) e o número de pratos teóricos para cada um dos quatro fármacos. Para calcular o fator de retenção, o tempo morto foi determinado pela injeção de uma solução de NaNO₃ 0,01% (p/v) em fase móvel. Inicialmente foi utilizado o comprimento de onda de 238 nm para análise de RIF, INH e de PZA e 210 nm para análise do ETB. O comprimento de onda de 205 nm também foi testado para análise do ETB, porém com a coluna Lichrospher® observou-se uma elevada flutuação da linha de base e maior sinal do ruído. Já na coluna Purospher® STAR a flutuação e o ruído não foram observados e o comprimento de onda de 205 nm pode ser utilizado obtendo-se um sinal mais intenso que em 210 nm. Com base nos resultados de N , a coluna Purospher® STAR se mostrou melhor para os fármacos polares (INH, PZA e ETB), mas teve pior resultado para a RIF, fármaco apolar. O valor de k não variou entre as colunas, porém, por reter mais os fármacos, a coluna Purospher® STAR apresentou maior valor de T .

Agradecimentos: À CAPES, FAPEMIG e Farmacopeia Brasileira pelo apoio financeiro.



DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE MÉTODO ANALÍTICO POR CLAE PARA DOSEAMENTO DE PREDNISONA EM CÁPSULAS

Pedro Henrique Reis da Silva, Paula Cristina Rezende Enéas, Gerson Antônio Pianetti

*Departamento de Produtos Farmacêuticos, Faculdade De Farmácia,
UFMG, Belo Horizonte, MG, Brasil.
ordepreis_minas@hotmail.com*

A prednisona é um anti-inflamatório esteroide, mais especificamente um glicocorticoide, amplamente utilizado na prática clínica no tratamento de doenças de origem inflamatória e autoimune. Atualmente, encontram-se disponíveis apenas medicamentos na forma farmacêutica comprimidos, não sendo encontradas cápsulas contendo prednisona. Faz-se necessário, portanto, a padronização de uma formulação de prednisona em cápsulas magistrais, visando o atendimento das necessidades individuais dos pacientes e a disponibilização de medicamentos contendo esse fármaco a custos mais acessíveis. Nos compêndios oficiais, entretanto, não são encontradas monografias para o controle de qualidade de prednisona em cápsulas. Os métodos analíticos para a determinação de prednisona em comprimidos disponíveis na literatura não se mostraram reprodutíveis e aplicáveis para a determinação de prednisona em cápsulas. Dessa forma, este estudo tem por finalidade desenvolver e validar um método analítico visando o controle de qualidade de cápsulas magistrais contendo prednisona. Utilizou-se cromatógrafo a líquido de alta eficiência Agilent® 1200, provido de detector de arranjo de fotodiodos. As condições cromatográficas obtidas foram: coluna cromatográfica empacotada com sílica ligada a grupo octadecilsilano, 250 x 4,0 mm, com tamanho de partícula de 5 µm, mantida à temperatura ambiente (25 °C), fase móvel constituída por uma mistura de metanol e água (70:30, v/v), eluição em modo isocrático, com fluxo de fase móvel de 1 mL/min, volume de injeção de 20 µL e comprimento de onda de detecção de 240 nm. A validação do método analítico foi realizada de acordo com a Resolução RE 899 de 29 de maio de 2003, avaliando-se os parâmetros de seletividade, linearidade, precisão, exatidão e robustez. O método demonstrou ser linear na faixa de 70 a 130% (0,014-0,026 mg/mL), com coeficiente de correlação superior a 0,99, seletivo, preciso, com desvios padrões relativos inferiores a 2%, robusto e exato, com recuperação média de 100,05%. Portanto, o método desenvolvido demonstrou ser adequado para o controle de qualidade de prednisona em cápsulas.

Agradecimentos: Agradecemos à FAPEMIG, à ANFARMAG e à Comissão da Farmacopeia Brasileira pelo apoio financeiro.

COMPARAÇÃO DE MÉTODOS POR CLAE-UV E EC-UV PARA DETERMINAÇÃO DE TUBERCULOSTÁTICOS DE PRIMEIRA ESCOLHA

Chellini, P. R.¹; Bastos, C. A.²; César, I. C.¹; Oliveira, M. A. L.²; Pianetti, G. A.¹

¹Laboratório de Controle de Qualidade, Faculdade de Farmácia, UFMG

²Laboratório de Química Analítica e Quimiometria, Dep. de Química, UFJF

paulachellini@gmail.com

De acordo com a Organização Mundial da Saúde, a tuberculose acompanha a humanidade por milhares de anos e tem sido um dos maiores problemas na área da saúde. Desde 2010, o esquema básico para adultos e adolescentes preconizado pelo Ministério da Saúde consiste em dois meses de tratamento com comprimido de dose fixa combinada de rifampicina (RIF), isoniazida (INH), pirazinamida (PZA) e cloridrato de etambutol (ETB), seguidos de quatro meses de tratamento com rifampicina e isoniazida. O uso de dose fixa combinada (DFC) simplifica o tratamento e aumenta a aceitação do paciente. Dessa forma, um método cromatográfico para determinação simultânea dos quatro fármacos em comprimidos de DFC foi desenvolvido e validado. As análises foram realizadas em cromatógrafo Agilent® 1200 provido de detector de arranjo de diodos, os comprimentos de onda escolhidos foram 210 e 238 nm. A eluição foi feita em gradiente, utilizando diferentes proporções de tampão fosfato de sódio monobásico monohidratado 20 mM com 0,2% de trietilamina pH 7,0 (A) e acetonitrila (B). A coluna utilizada foi C18 250 x 4,6 mm, 5µm. O fluxo foi de 1,5 mL/min e o volume de injeção foi 25 µL. O método cromatográfico foi comparado a um método eletroforético realizado em equipamento Agilent® Technologies 7100 CE. O comprimento de onda escolhido foi 262 nm e a temperatura foi mantida em 25 °C. O eletrólito utilizado consiste de um tampão acetato de sódio 50 mM com sulfato de cobre 12,5 mM. As amostras foram injetadas de forma hidrodinâmica (30 mbar por 5s) e o sistema eletroforético foi operado em polaridade normal e voltagem constante de +22 kV. Para todos experimentos foi utilizado um capilar de sílica fundida de 48,5 cm (comprimento efetivo de 40 cm)x75 µm IDx375 µm OD. Os métodos foram avaliados de forma comparativa em relação ao tempo de análise, custo e geração de resíduos. A repetibilidade também foi considerada, por meio do coeficiente de variação. O custo dos reagentes utilizados na análise por EC é em torno de 1% do custo da análise por CLAE, além disso no método por EC não há consumo de solventes orgânicos, não havendo geração de resíduos nocivos. Os tempos de análise são similares, pois para fazer a análise por cromatografia foi necessário usar o gradiente, dessa forma, é preciso reequilibrar a coluna antes da próxima análise e para fazer a eletroforese é necessário lavar o capilar antes de cada análise. Devido à alta variação do volume de injeção observada no método de EC, se torna necessária a utilização de um padrão interno, o analito escolhido foi o sparfloxacino. Os teores encontrados nas duas técnicas foram: 105,23% RIF, 98,71% INH, 98,40% PZA, 96,10% ETB pelo método cromatográfico e 108,80% RIF, 95,20% INH, 96,22% PZA, 103,81% ETB pelo método eletroforético. Os coeficientes de variação encontrados para a técnica de EC, utilizando o padrão interno, foram entre 0,98% e 3,73% e para CLAE foram entre 0,23% e 0,81%.

Agradecimentos: À CAPES e Farmacopeia Brasileira pelo apoio financeiro, ao Ministério da Saúde pela doação das amostras.



DETERMINAÇÃO DE CIPROFLOXACINO, ENROFLOXACINO E LIDOCAÍNA POR HPLC/DAD

Anacleto, S. S.; Borges, K. B.

*Laboratório de Química Analítica, Universidade Federal de São João del-Rei
keyller@ufsj.edu.br*

Atualmente, após inúmeros episódios desastrosos envolvendo o uso de medicamentos e com a consciência dos riscos ao seu uso, a segurança destes produtos passou a ser questionada com maior rigor. Por tais razões, é de grande importância o desenvolvimento de métodos analíticos eficazes e confiáveis para o controle de qualidade dos medicamentos veterinários comercializados, tornando-se imprescindível o desenvolvimento de rotinas de análises que, além de servirem para este propósito, favoreçam sua implantação em comparação aos métodos existentes. A necessidade de se mostrar a qualidade das análises químicas está sendo cada vez mais reconhecida e exigida, pois dados analíticos não confiáveis podem conduzir a decisões contraditórias e a prejuízos financeiros irrecuperáveis. Para tanto, é extremamente necessário que se faça a validação dos métodos analíticos. A função de uma validação é demonstrar que o método é apropriado para a finalidade pretendida, ou seja, a determinação qualitativa, semi-quantitativa e/ou quantitativa de fármacos e outras substâncias em laboratório de produtos farmacêuticos. O objetivo do trabalho foi o desenvolvimento de um método empregando HPLC/DAD para a análise e quantificação das fluoroquinolonas ciprofloxacino e enrofloxacino na presença de um anestésico comumente utilizado em formulações farmacêuticas injetáveis, a lidocaína. Visando a otimização do método de análise dos fármacos, foram avaliadas diferentes condições. Para tanto, houve variação tanto da composição quanto da proporção da fase móvel, fluxo, temperatura, volume de injeção, pH, dentre outros. As melhores condições cromatográficas foram: coluna Phenomenex Gemini C18 (250 x 4,6 mm, 5 µm), à temperatura de 25 °C, sob condições isocráticas empregando 14,3% de acetonitrila/ 85,7% de tampão fosfato (pH 3,29), vazão de 1,5 mL/min, volume de injeção de 10 µL e detecção UV/Vis de 210 e 280 nm. Os resultados obtidos foram satisfatórios, sendo que foi possível a determinação dos fármacos ciprofloxacino, enrofloxacino e lidocaína com um tempo inferior a 15 minutos. O método foi validado e apresentou boa seletividade, linearidade, precisão, exatidão e limites de detecção e quantificação. Posteriormente, houve eficácia na aplicação do método para a formulação farmacêutica do fármaco enrofloxacino, com obtenção de resultados com diferença de menos de 5% do esperado.

Agradecimentos: CNPq, FAPEMIG, CAPES e Rede Mineira de Química.

CUANTIFICACIÓN DE LOS CONTRAIONES ACETATO Y TRIFLUORACETATO EN MUESTRAS DE PÉPTIDOS SINTÉTICOS

Mailyn La O González, Galina Moya Fajardo, Jorge L. López Reconde,
Isabel Rey Montelongo, Hilda Garay Pérez, Osvaldo Rey

Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología, La Habana, Cuba
maylin.lao@cigb.edu.cu

Introducción: El ácido trifluoroacético (TFA) se utiliza comúnmente en el proceso de fabricación para la obtención de péptidos en fase sólida separar el péptido del soporte sólido y durante la etapa de purificación. El TFA es tóxico por lo que su presencia debe controlarse, siendo este aspecto una exigencia regulatoria, resulta conveniente la comprobación de la remoción del trifluoracetato durante el proceso de producción. En este trabajo se expone el establecimiento de un método cromatográfico de fase reversa para la cuantificación de los contraiones acetato y trifluoracetato en muestras de péptidos sintéticos de interés farmacéutico. **Materiales y Métodos:** Se utilizó un sistema de HPLC (Yung Lin Instrument, Korea); Bomba binaria YL9111, desgasificador YL9101, detector de arreglo de fotodiodos YL9160, horno de columna YL9130, inyector automático YL9150, programa de adquisición y procesamiento de datos YL Clarity versión 3.0.2.244. La separación se realizó en una columna C18 Nucleosil (4,6 x 250 mm, 5 µm, 100Å) en condiciones isocráticas, la fase móvil fue fosfato de sodio 0.115 M pH 3.5, la detección fue a 205 nm y el flujo a 1 mL/min. **Resultados y Discusión:** Se realizaron las curvas de Acetato y TFA con una $R^2=0.99$. Los valores obtenidos para 8 lotes de IFA para cada contraión estuvieron en el rango de los valores esperados, (TFAc- de 1 a 5 % y Ac- de 10 a 15%. El paso de lavado permitió la remoción del péptido en tres ciclos de lavado comprobándose la limpieza total del a columna. **Conclusiones:** Se estableció un método de cuantificación que permite ser utilizado como control de proceso para la remoción de acetato y trifluoracetato para péptidos sintéticos y el cumplimiento de requisitos regulatorios. Se estableció un paso de lavado entre muestras que garantiza la reproducibilidad del ensayo.



VALIDACIÓN DEL RP-HPLC PARA LA IFA Y EL PF DEL PÉPTIDO CIGB-300

Mailyn La O González, Galina Moya Fajardo,
Jorge L. López Reconde, Isabel Rey Montelongo

Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología, La Habana, Cuba
maylin.lao@cigb.edu.cu

Introducción: El CIGB-300 es un péptido sintético que constituye un novedoso medicamento con acción antitumoral destinado al tratamiento de cáncer en el útero y otras localizaciones. En este trabajo se presenta la validación de un método de HPLC en fase reversa (RP) para el control de pureza del péptido CIGB-300. **Materiales y Métodos:** Se utilizaron 3 sistemas de HPLC-RP, Merck Hitachi (Interface, bomba, detector UV), Young Lin (Interface, bomba, detector PDA, Autosampler), Knauer, (Interface, bomba, detector UV, Autosampler) una columna C8 Vydac, con un flujo de trabajo 0,8 mL/min, longitud de onda 226 nm. Se utilizaron los software: YL-Clarity versión 3.0.2.244, LaChrom D-7000 HPLC versión 3.1. **Resultados y Discusión:** La variabilidad entre días y analistas fueron menores del 1 % cumpliendo con el criterio de aceptación establecido para este parámetro como $\leq 2\%$. Se estableció el criterio de adecuabilidad del sistema cromatográfico en $\leq 1\%$ para 3 replicas del MR por ensayo. Por espectrometría de masas se verificó la secuencia del péptido, obteniéndose una masa de 3057,75 Da, cumpliendo con el criterio de aceptación de $3057,62 \text{ Da} \pm 0,5 \text{ Da}$ para el pico mayoritario del CIGB-300. Se corroboró la homología entre el ingrediente farmacéutico activo y el producto terminado obteniéndose perfiles y tiempos de retención similares. **Conclusiones:** Los resultados obtenidos y su comparación con los criterios de aceptación, muestran que la validación de la técnica para el péptido CIGB-300 resultó satisfactoria.

SIMULTANEOUS DETERMINATION OF CLOTRIMAZOLE, KETOCONAZOLE AND DEXAMETHASONE BY ULTRA FAST LIQUID CHROMATOGRAPHY

Lílian Grace da Silva Solon, Gessiane Ferreira Germano, Monique Gomes Dantas,
Igor Prado de Barros Lima, Cícero Flávio Soares Aragão

*Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Departamento de Farmácia,
Laboratório de Controle de Qualidade de Medicamentos,
Rua General Cordeiro de Farias, S/N, Petrópolis, Natal – RN, Brazil
cicero.aragao@yahoo.com.br*

The determination of clotrimazole (CL), ketoconazole (KT) and dexamethasone (DM) in quality control of medicines have been carried out by high performance liquid chromatography (HPLC). However, the use of HPLC in the routine analysis spends a lot of time and high solvent consumption. The development of ultra fast liquid chromatographic methods (UFLC) should prove to be a very interesting task aimed at dealing with the instrumental simultaneous determination of CL, KT and DM in active pharmaceutical ingredients (API). The method development was based on the 3^2 factorial design. Factors were the flow of mobile phase and column length. The mobile phase consisted of methanol, ammonium acetate buffer and acetonitrile (33:27:40) with isocratic elution and UV detection set at 254 nm. System suitability parameters (retention time, resolution, asymmetry and theoretical plates number) were obtained from the nine chromatograms which surface -response graphs were plotted. A global optimum was obtained by selecting the elution time and the overall resolution as responses to optimize. The best conditions were: a stainless steel Shim-pack XR-ODS column (50 mm x 2 mm i.d., 2.2 μ m particle size), at 30 ± 2 °C and a flow rate of at 0.8 mL.min⁻¹. The UFLC method developed in this study showed a very suitable simultaneous quantification of CL, KT and DM in a short analysis time, less than 3 minutes.

Acknowledgments: Coordenação de Pessoal de Nível Superior (CAPES) and CNPQ.



EVALUATION OF THE COAGULATION FACTOR XI PRESENCE IN INTRAVENOUS IMMUNOGLOBULIN G PREPARATIONS

Pinto JV, Cheng E, Nakajima E, Verinaud CI, Raw I, Martins EAL

Setor Hemoderivados e Centro de Biotecnologia, Instituto Butantan, SP, Brazil;

Pós Graduação Interunidades em Biotecnologia USP, SP, Brazil

elizabeth.martins@butantan.gov.br

The availability of biopharmaceuticals derivatives from blood plasma is an important parameter to measure a country's health quality. Among hemoderivatives products, immunoglobulin concentrates have high value, being described to many diseases. For the immunoglobulin preparations to be effective, it is important for the population to receive a plasma derivative product from donors from the same region. There are also previsions for new applications, the product is becoming too competitive and the pursuit for self-sufficiency is turning to be indispensable. Hemoderivatives are very expensive products and the plasma fractionation capacity is a development trade from a country. Instituto Butantan, for its vocation in public health, aims the establishment of an industrial plant for plasma fractionation. In this context, a modern productive process was drawn, based mainly in chromatographies, which differs itself from the commonly used processes, based fractioning by cold precipitations in the presence of ethanol. In the last years, thromboembolic events were notified in patients that received infusions of intravenous immunoglobulins concentrates (IVIg). These collateral effects have been related with the presence of coagulation Factor XI (FXI) as contaminant in the IVIG preparations. In the dissertation here presented, our objective was to track FXI in the chromatographic fractions of the process of obtainment of IVIG, drawn for the industrial plant of Instituto Butantan. The plasma chromatographic process was tested in pilot scale and the FXI was measured in the initial fractions and in the final product IVIg. One variant of the chromatographic process, using direct chromatography in Q-Sepharose ionic exchange resin was also studied. The methods of measurement of FXI activity thru coagulation time (activated partial thromboplastin time – aTTP) and amidolytic assay using chromogenic substrate were established. Also, western blot assays were used to precise the size of the detected proteins. We have concluded that FXI eluates together with IgG in the early stages of the chromatographic processes used. We have verified that FXI presence occurs in the final products, however the tests have to be reproduced with more precision, minding that the activities are in the limit of detection of the assay. This wor contributes to the development of the set of quality control tests of biopharmaceuticals derivatives from human plasma.

Supported by Fundação Butantan, Instituto Butantan, SES-SP.

DETERMINATION OF SUMA SUPERSOL® RESIDUE BY LC-MS/MS - APPLICATION FOR CLEANING VALIDATION PROCESS

Pastre, K.I.F.; Galvinas, P.A.R.; Guimarães, C.L.; Silva, W.M.;
Schramm, S.G.; Silva Neto A.A.S.; Armando, Y.P.

MAGABI Pesquisas Clínicas e Farmacêuticas Ltda.
Rodovia Pres. Castello Branco, km 35,6 - Itaquí - Itapevi/SP - Brasil
katia.pastre@magabi.com.br; paulo.galvinas@magabi.com.br

Suma Supersol® is a liquid detergent used in industrial cleaning process of pharmaceutical products manufacturing. The major cleaning agent in Suma Supersol® is dodecylbenzenesulfonic acid (DBSA). The intent of this analytical method was to establish a simple, rapid, sensitive and specific LC-MS/MS assay for determination of residual Suma Supersol, using DBSA as a marker, in samples from validation of cleaning process in pharmaceutical production equipments. The samples were collected in industrial equipments after the application of cleaning procedure using swabs moistened in a blend of Isopropanol/Water (50/50; v/v) + Hexane 1%. For quantification of Suma Supersol® residue, each swab was immersed in 10mL of the same solvent and sonicated for 10 minutes. An aliquot of 1ml of the extract was transferred to a 2 ml vial to which was added 50µl of a 100 ppm solution of dodecylsulfonic acid as internal standard. It was injected 5µl into the HPLC system. The chromatography was performed using an analytical column ACE, C4, 5 µm (50x4.6 mm), operating at 40°C. The mobile phase was Acetonitrile/Water + Formic Acid 0.1% + Ammonium Formate 50 mM (68/32; v/v). The total run time was 2.0. The retention times were 0.91 min (DBSA) and 0.71 min to dodecylsulfonic acid (DAS). The multiple reaction monitoring (MRM) detection mode was employed for DBSA (m/z 325.0/183.0) and DAS (m/z 265.2/96.2) for precursor and product ion fragments respectively. The analysis was performed in a Agilent 1200 Series RRLLC system (Agilent, Germany) coupled to a API5500Qtrp triple quadrupole mass spectrometer (ABSciex, Canada), equipped with a Electrospray source and running in negative mode. The analytical method was validated in compliance with the criteria established by ANVISA resolution RE899/03 and the limits established by the “Guidance on aspects of cleaning validation in active ingredient pharmaceutical plants” from APIC (Active Pharmaceutical Ingredients Committee). The following parameters were validated: specificity, accuracy, repeatability, intermediate precision, limit of detection (0.01 ppm), limit of quantification (0.2 ppm), linearity (0.2 to 15 ppm), range, robustness, recovery from stainless steel plate (86.8%), carry-over, autoinjector stability, analyte stability in swab and in solution.

Special Thanks to MAGABI Technical, Quality Assurance and Administrative Departments.



LIQUID CHROMATOGRAPHY METHODS FOR THE ANALYSIS OF FILGRASTIM IN BIOTECHNOLOGY-DERIVED MEDICINES

Silva, F. S.¹; Schramm, V. G.²; Souto, R. B.²; Freitas, G. W.²;
Cardoso Jr., C. D. A.²; Xavier, B.¹; Dalmora, S. L.¹

¹Department of Industrial Pharmacy,

²Postgraduate Program in Pharmaceutical Sciences,

Federal University of Santa Maria, Santa Maria-RS, Brazil

sdalmora@terra.com.br

Introduction: The recombinant human granulocyte colony stimulating factor (rhG-CSF), non-glycosylated, is a hematopoietic cytokine produced by DNA recombinant technology expressed in *Echerichia Coli*. It consists of a 175 aminoacids peptide chain and is used clinically to treat neutropenia. The aim of this work was to perform the analysis of the content/potency of filgrastim and the related forms in biopharmaceutical formulations by validated gradient reversed-phase (RP-LC) and size-exclusion liquid chromatography (SE-LC) establishing correlations with in vitro bioassay. **Methods:** The gradient RP-LC method was carried out on a Jupiter C4 column (250 mm x 4.6 mm i.d.) Phenomenex, maintained at 25 °C. The mobile phase A consisted of 0.1% trifluoroacetic acid in water: acetonitrile (90:10, V/V), and the mobile phase B was 0.1% trifluoroacetic acid in acetonitrile: water (80: 20, V/V) with UV detection at 280 nm. The SE-LC method was carried out on a BioSep-SEC-S 2000 column (300 mm x 7.8 mm i.d.), maintained at 25 °C. The mobile phase consisted of 0.1 M phosphoric acid buffer, pH 2.5, run isocratically at a flow rate of 1.0 mL/min with UV detection at 214 nm. Biological potency of rhG-CSF was assessed by the M-NFS60 cell proliferation bioassay based on the dose-dependent growth curve of the cells, evaluated by the cell counting, and measuring the assay responses with MTT. The statistical analysis of the assay data was performed by a parallel line method, using Combstats Software. **Results:** The LC methods were applied for the analysis of rhG-CSF biotechnology-derived products giving content/potencies between 98.24% and 102.65% for RP-LC, and 96.47 and 104.36%, for the SE-LC, respectively, with mean values 0.87% and 0.45% higher, related to those obtained with the in vitro bioassay. The experimental data were compared statistically by analysis of variance (ANOVA), which showed significant correlation ($p > 0.05$). **Conclusion:** The LC methods applied in combination with the in vitro M-NFS60 cell proliferation bioassay represent a contribution to establish new alternatives to monitor stability, and to improve the batch-to-batch consistency, assuring quality of the bulk and finished biopharmaceutical products.

Acknowledgements: CNPq.

REVERSED-PHASE LIQUID CHROMATOGRAPHY METHOD FOR THE ANALYSIS OF BOTULINUM TOXIN

Freitas, G. W.²; Perobelli, R. F.¹; Pinto, M. A.¹;
Schramm, V. G.²; Stamm, F. P.²; Dalmora, S. L.¹

¹*Department of Industrial Pharmacy,*
²*Postgraduate Program in Pharmaceutical Sciences,*
Federal University of Santa Maria, Santa Maria-RS, Brazil
sdalmora@terra.com.br

Botulinum neurotoxins are primarily produced by the gram-positive, anaerobic spore-forming bacterium *Clostridium Botulinum* and the active toxin with a molecular mass of 150 kDa occurs naturally as part of a high molecular weight complex containing the neurotoxin moiety and a set of complexing proteins. Botulinum toxin type A is a complex protein purified from the supernatant obtained from a broth-culture of a suitable strain of *Clostridium botulinum* type. It is currently used worldwide for the treatment of strabismus, blepharospasm, hemifacial spasm, cervical dystonia, hyperhidrosis and facial esthetic procedures. The aim of this study was to develop and validate a reversed-phase liquid chromatography method (RP-LC), for the assessment of botulinum toxin in biopharmaceutical formulations. The RP-LC method was carried out on a Zorbax 300SB C18 column (150 mm x 4.6 mm i.d.), maintained at 45°C. The mobile phase consisted of 0.05 M sodium phosphate buffer, pH 2.8, and acetonitrile (80:20, V/V). The gradient elution was performed at a flow rate of 0.3 mL/min with UV detection at 214 nm. The method validation investigated parameters recommended for analytical methods. The chromatographic separation was obtained with the retention time of 11.4 min and was linear over the concentration range of 0.19 - 100 IU/mL ($r^2=1.0$). The limits of detection and quantitation were 0.05 and 0.19 IU/mL, respectively. The accuracy was 100.84% with bias lower than 1.12%. Moreover, method validation demonstrated acceptable results for precision and robustness. The specificity was established in degradation studies, which also showed that there was no interference of the excipients. The method was applied to the quantitative analysis of botulinum toxin in biopharmaceutical formulations giving potencies between 98.74% and 102.43%. The results obtained demonstrated the quality of the preparations, and represents a contribution to establish an alternative physicochemical method, which improves the characterization and quality control of the biological medicine.

Acknowledgements: CNPq.



DEVELOPMENT AND VALIDATION OF A STABILITY-INDICATING LC METHOD FOR THE ANALYSIS OF RIVAROXABAN

Walter, M. E.²; Pinto, M. A.¹, Cardoso Jr, C. D. A.²;
Xavier, B.¹; Stamm, F. P.²; Dalmora, S. L.¹

¹Department of Industrial Pharmacy,

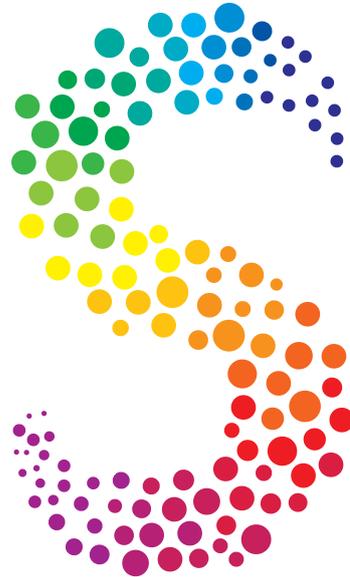
²Postgraduate Program in Pharmaceutical Sciences,

Federal University of Santa Maria, Santa Maria-RS, Brazil

sdalmora@terra.com.br

Introduction: Rivaroxaban (RIV), an oral oxazolidinone-based anticoagulant, is a potent and selective direct inhibitor of factor Xa with a molecular mass of 436 g/mol, almost insoluble in water. Clinically it has been indicated for the prophylaxis of deep vein thrombosis in patients after total hip replacement or total knee replacement surgery. The aim of this study was to develop and validate a reversed-phase liquid chromatography method (RP-LC) for the determination of RIV in pharmaceutical formulations. **Methods:** The RP-LC method was carried out on a Synergi Fusion C18 column (150 x 4.6mm) Phenomenex, maintained at 40°C. The mobile phase consisted of acetonitrile and ultrapure water (70:30, V/V). The isocratic elution was performed at a flow rate of 0.7 mL/min with UV detection at 249 nm. The method validation investigated parameters recommended for analytical methods. **Results:** The chromatographic separation was obtained with the retention time of 2.9 min and was linear over the concentration range of 0.05 - 200 µg/mL ($r^2=0.9990$). The limits of detection and quantitation were 0.01 and 0.05 µg/mL, respectively. The accuracy was 99.36% with bias lower than 0.92%. Moreover, method validation demonstrated acceptable results for precision and robustness. The specificity was established in degradation studies, which also showed that there was no interference of the excipients. The proposed method was applied for the analysis of tablet dosage products showing content within 95.91% and 103.42%. **Conclusion:** The RP-LC method validated was applied to the analysis of RIV in tablet dosage forms, demonstrating the quality of the products and the capability of the method that contributes to improve the quality control, and to assure the safety and therapeutic efficacy.

Acknowledgments: CNPq, FATEC.



SEÇÃO D



DEGRADAÇÃO FORÇADA EM MEIO ÁCIDO PARA FÁRMACOS TUBERCULOSTÁTICOS E COMPRIMIDO EM DOSE FIXA COMBINADA

Rachel L. M. Freire, Naialy F. A. Reis, Cristina D. V. Soares, Christian Fernandes, Gérson A. Pianetti

Faculdade de Farmácia. Universidade Federal de Minas Gerais.

Av. Antônio Carlos, 6627 - Pampulha - Belo Horizonte-MG - CEP 31270-90

naialy@gmail.com

Introdução: Os estudos de degradação forçada são testes realizados com o insumo farmacêutico ativo e com a forma farmacêutica em condições extremas, com o intuito de avaliar seu comportamento químico e prever as possíveis vias de degradação. Os produtos de degradação são impurezas resultantes da degradação do fármaco ou excipientes de uma formulação e podem surgir durante o armazenamento do medicamento, diante de situações de estresse, resultantes dos efeitos da luz, temperatura, pH, umidade e transporte. **Objetivos:** Estudar a cinética de degradação em meio ácido dos fármacos e de uma dose fixa combinada contendo etambutol, isoniazida, pirazinamida e rifampicina, aplicados ao tratamento da tuberculose. **Materiais e Métodos:** O comprimido pulverizado foi submetido ao meio ácido (HCl 0,1 M) e foram coletadas alíquotas nos tempos 1, 2, 3, 4 e 5 horas, em seguida realizou-se diluição para obter concentrações finais de 0,150 mg/mL de rifampicina; 0,075 mg/mL de isoniazida; 0,400 mg/mL de pirazinamida e 0,275 mg/mL de etambutol. Essas alíquotas foram injetadas em cromatógrafo a líquido de alta eficiência, utilizando método em gradiente validado, com acetonitrila e tampão fosfato de sódio pH 7 como fase móvel, coluna cromatográfica C18 de 250mm x 4mm, fluxo de 1,5 mL/min, detecção no ultravioleta em 210 nm para o etambutol e 238 nm para os demais fármacos, temperatura de 40°C. Os gráficos de cinética foram construídos baseando-se na área encontrada (teor) em relação ao tempo para cada um dos quatro fármacos. Realizou-se também o acompanhamento da cinética dos produtos de degradação formados na hidrólise ácida do medicamento. No estudo de degradação do medicamento em meio ácido, não houve alterações significativas nas áreas referentes ao etambutol e pirazinamida, por isso realizou-se um teste de degradação forçada em HCl 0,1 M de forma isolada apenas com a rifampicina e a isoniazida. **Resultados e Discussão:** Em relação aos resultados referentes ao comprimido, o melhor ajuste para a degradação da rifampicina e isoniazida em meio ácido foi a cinética de segunda ordem. Foram observados dois novos picos, referentes aos produtos de degradação nos tempos de retenção de 10,36 e 13,72 minutos. Após as 5 horas de experimento, a degradação da rifampicina foi de 38% enquanto a degradação da isoniazida foi de 14%. Em relação à degradação isolada, a cinética da rifampicina apresentou menor taxa de degradação (menor inclinação das retas) e menor porcentagem degradada (21%) ao final do experimento, formando um único produto de degradação no tempo de retenção 10,6 minutos. A isoniazida degradou aproximadamente 5% e não observou-se novos picos. **Conclusão:** Nos estudos de cinética na condição ácida observou-se que a rifampicina e isoniazida degradam em maior proporção quando na presença uma da outra, por apresentarem interferência mútua, formando um produto híbrido no comprimido.

Agradecimentos: CAPES, Fapemig e ANVISA junto à Farmacopeia Brasileira.

TESTES DE DEGRADAÇÃO FORÇADA E DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO INDICADOR DE ESTABILIDADE PARA NEVIRAPINA

Jéssica C. Assis, Naialy F. A. Reis, Sílvia L. Fialho,
Gerson A. Pianetti, Christian Fernandes

*Faculdade de Farmácia. Universidade Federal de Minas Gerais.
Av. Antônio Carlos, 6627 - Pampulha - Belo Horizonte-MG, Brasil - CEP 31270-901
je-camille14@hotmail.com*

Introdução: A prevalência da AIDS no Brasil e no mundo é muito alta. O principal objetivo da terapia antirretroviral é retardar a progressão da imunodeficiência possibilitando maior qualidade de vida aos portadores do vírus HIV pela administração de uma combinação de fármacos antirretrovirais. A nevirapina é um importante componente da farmacoterapia aplicada ao tratamento da AIDS e atua inibindo a multiplicação viral e prevenindo a transmissão materno-fetal do HIV. O desenvolvimento de estudos sobre a degradação da nevirapina é de extrema relevância, visto que permite determinar as transformações estruturais deste princípio ativo, detectar potenciais produtos de degradação e determinar as condições acidentais de exposição que podem ser deletérias para o fármaco e medicamentos. Para acompanhar os resultados provenientes dos estudos de estabilidade é necessária a utilização de um método indicador de estabilidade. **Objetivos:** Realizar estudo de degradação forçada da nevirapina e desenvolver e otimizar método indicador de estabilidade seletivo para o insumo farmacêutico ativo e seus produtos de degradação. **Materiais e Métodos:** O insumo farmacêutico ativo, comprimidos e placebo, foram expostos a condições de hidrólise neutra (H_2O), ácida (HCl 1 M), básica ($NaOH$ 1 M), oxidação (H_2O_2 3% v/v) e presença de íons metálicos ($CuSO_4$ 0,05 M), com e sem aquecimento. Após 24 horas, alíquotas de 5 μL dessas soluções nas concentrações de 1 mg/mL e 0,04 mg/mL foram injetadas em cromatógrafo a líquido de ultra eficiência (UHPLC), com detector DAD, utilizando coluna C18 (100 x 2,1 mm, 1,7 μm) mantida à temperatura de 30°C e fase móvel composta de acetonitrila e água (eluição gradiente). **Resultados:** O método cromatográfico otimizado apresentou tempo de corrida de 13 minutos e o gradiente variou de 92:8 a 10:90 de água/acetonitrila, seguida do reequilíbrio da coluna, e o fluxo da fase móvel também variou entre 0,1 mL/min e 0,25 mL/min durante o gradiente. A nevirapina apresentou tempo de retenção de 10,3 minutos. As amostras de insumo farmacêutico ativo e comprimidos expostas ao peróxido de hidrogênio apresentaram a maior degradação, cerca de 20%, com formação de pelo menos sete produtos de degradação com tempos de retenção entre 7 e 10 minutos. Foram observados dois novos picos nas alíquotas provenientes da degradação ácida, com tempos de retenção de 2,5 e 3,4 minutos; porém, não foi observado mudança no teor da nevirapina nessas mesmas amostras. Nas demais condições de estresse não foi observada degradação significativa, nem a formação de novos picos. **Conclusão:** A nevirapina é um fármaco susceptível à degradação oxidativa. O método desenvolvido e otimizado demonstrou ser seletivo para a determinação de nevirapina na presença dos produtos de degradação formados nas condições testadas, podendo ser utilizado durante estudos de estabilidade.

Agradecimentos: FAPEMIG, CAPES, FUNED e Farmacopeia Brasileira.



INFLUÊNCIA DO IFA NAS IMPUREZAS DE RIVASTIGMINA CÁPSULA ANALISADAS POR CROMATOGRÁFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA (CLAE)

Mara Fernandes Ribeiro; Aline Rocha; Iara Coutinho Desmarais

*Instituto Vital Brazil (IVB) - Rua Maestro José Botelho nº 64, Vital Brazil – Niterói/RJ
marinhafribeiro@yahoo.com.br*

A Rivastigmina é um medicamento utilizado para o tratamento da doença de Alzheimer. O Insumo Farmacêutico Ativo (IFA) utilizado para a fabricação do medicamento é o Hemitartarato de Rivastigmina. A avaliação de substâncias estranhas à formulação e que por qualquer mecanismo possam trazer prejuízos à saúde têm sido alvo de investigações em indústrias farmoquímicas e farmacêuticas. Portanto, uma das importantes estratégias para evitar ou monitorar a presença destas impurezas, seja em fármacos ou em medicamentos, trata-se justamente de conhecer ou especular suas possíveis origens. As impurezas presentes no medicamento podem ser provenientes do IFA, dos excipientes ou do processo de fabricação. O objetivo deste estudo foi demonstrar que as impurezas presentes nos lotes de Rivastigmina cápsula são provenientes do IFA utilizado em sua fabricação. Para isso, foi utilizada a metodologia analítica descrita na monografia do produto que utiliza cromatógrafo líquido de alta eficiência. Foram comparadas cápsulas de Rivastigmina de três diferentes dosagens: 3,0; 4,5 e 6,0 mg. Inicialmente comparou-se quatro lotes de cada dosagem produzidos com o mesmo lote de IFA e em seguida, foram comparados dois lotes de IFA diferentes para cada dosagem de cápsula, sendo quatro lotes de cada dosagem para cada IFA utilizada. Além disso, foi testado cada excipiente presente na formulação dessas cápsulas, preparados em amostras individuais e injetados separadamente no cromatógrafo. A análise dos cromatogramas dos excipientes não apresentou nenhum pico cromatográfico. Por outro lado, os cromatogramas das amostras de cápsulas demonstraram a presença de quatro picos de impurezas desconhecidas com tempos de retenção semelhantes para cápsulas produzidas com o mesmo IFA, independente da dosagem da cápsula. Os cromatogramas obtidos de cápsulas de mesma dosagem produzidas com dois IFAs diferentes apresentaram picos de impurezas diferentes. Para um lote de IFA foram observados três picos de impurezas desconhecidas com tempos de retenção distintos daqueles observados para o outro lote de IFA utilizado, no qual foram observados quatro picos de impurezas. Além das impurezas desconhecidas, foi avaliada também a presença do pico de impureza do Fenol, tal impureza encontra-se descrita no compêndio oficial deste produto. Esta análise demonstrou que a intensidade do pico da impureza do Fenol foi semelhante entre cápsulas produzidas com o mesmo lote de IFA e diferente daquelas produzidas com o outro lote de IFA analisado. Com base nos resultados, é possível afirmar que as impurezas presentes nas cápsulas de Rivastigmina são provenientes do IFA utilizado para sua fabricação. Dessa forma, o controle de impurezas deste produto deve visar uma análise minuciosa da matéria-prima, a fim de monitorar a presença dessas impurezas. Nos IFAs, as principais impurezas são derivadas do processo de síntese, sendo assim, de origens intrínsecas às rotas sintéticas propostas e demandaria abordagens e metodologias analíticas também distintas para que seja possível sua avaliação.

Agradecimentos: Antônio Joaquim Werneck de Castro, Diretor Presidente do Instituto Vital Brazil; Luís Eduardo Ribeiro da Cunha, Diretor Científico; Celina Rocha Filgueiras, Gerente do Controle de Qualidade; Isabella Piazza, Chefe do Departamento de Controle Químico; e Antônia Maria Cavalcanti de Oliveira, Assessora Especial do Centro de Estudo e Aperfeiçoamento.

GENERIC APPROACH FOR PHARMACEUTICAL DRUG DISCOVERY AND DEVELOPMENT USING RP HILIC WITH CAD

Frank Steiner¹, Michael Heidorn¹, Markus M. Martin¹,
Marc Yves Chalom², Rodrigo de Sousa Leite²

Thermo Fisher Scientific,

¹*Germering, Germany,*

²*São Paulo, SP, BR*

marc.chalom@thermofisher.com

Liquid chromatographic (LC) methods for the assay of active pharmaceutical ingredients (API), drug candidates, intermediates, related substances, and impurities are crucial in pharmaceutical development. During early-stage drug discovery, the chemical synthesis route, the impurity profile, and even the formulation of the drug product are not completely established but are rather subject to constant modification. Thus, from pre-clinical to clinical development and, finally, to New Drug Application (NDA) submission, a drug-specific LC method must be modified several times. These samples can contain analytes of interest with a wide polarity range which makes their chromatography challenging. A very promising practice in drug discovery is the use of two separate analyses of the same sample; by reversed-phase (RP) LC on the one hand and hydrophilic interaction LC (HILIC) on the other hand. In this work, a generic method approach is presented that addresses common changes during the drug development lifecycle and is applicable to each new drug formulation. The analysis combines gradient RPLC in the first stage and, enabled by organic solvent addition to the eluate coming from the RP column, with gradient HILIC in the second stage. This approach was optimized by combining solvent and flow rate gradients, simple solvent compositions, and UHPLC technology. This allows simplified separation of both hydrophilic and hydrophobic substances within a broad elution window and in a single, short run. Charged Aerosol Detection (CAD) allows near universal detection of non-volatile substances. The performance of the generic method approach is shown with a model sample and an emtricitabine degradation study. The results show that the combination of reversed-phase and hydrophilic interaction liquid chromatography with CAD is a powerful approach for generic separation and detection of non-volatile hydrophilic and hydrophobic compounds in a single run. RP-HILIC-UV-CAD has potential to become the generic method approach of choice for screening in pharmaceutical research and development. The generic method setup can be applied to modify existing RPLC screening methods and increase their generic capabilities.



AVALIAÇÃO DOS INTERMEDIÁRIOS DA SULFAMETAZINA FORMADOS POR FOTÓLISE EM ÁGUA E EM ESGOTO SINTÉTICO

Tanare C.R. Ferreira* ; Amanda H. Imamura; Leonardo P. Medinilha;
Fernando M. Lanças; Alvaro J. Santos-Neto

Av. Trabalhador São-carlense, 400 CP 780
Instituto de Química de São Carlos, IQSC – USP, SP

*tanarecabraia@iqsc.usp.br

A identificação de intermediários formados durante os processos de tratamentos de efluentes tem se tornado alvo de estudos. Entretanto, uma das questões mais importantes nos estudos de intermediários formados durante a fotólise ou degradação de fármacos por processos oxidativos avançados publicados atualmente é a concentração inicial utilizada. Altas concentrações dificultam a compreensão da real situação que ocorre na natureza. Dentro deste contexto, o presente estudo, avaliou a pré-concentração de intermediários formados durante a fotólise em solução aquosa e em esgoto sintético da sulfametazina (SMZ) na concentração de 0,25 mg L⁻¹, utilizando um sistema LC-ESI-QToF/MS para as análises. Dentre os sorventes e condições de eluição dos produtos de degradação avaliados, o Oasis HLB utilizando o metanol puro e metanol 5% NH₄OH como eluentes obteve a melhor resposta, sendo então utilizado na pré-concentração dos intermediários formados durante a degradação realizada em concentração de 0,25 mg L⁻¹. Foram encontrados sete intermediários na amostra degradada em água: m/z 140,0810; 229,1090; 231,1236; 293,0696; 295,0858 e o 215,1285 que apresentou dois picos cromatográficos diferentes que corresponderam ao mesmo espectro de massas. Os isômeros apareceram no cromatograma com a mesma m/z 215,1285 e composição elementar C₁₂H₁₅N₄ apresentando os seguintes tempos de retenção: A-2,5 e B-4,3 min. Na amostra degradada em esgoto sintético apenas o m/z 215 A foi detectado. Os produtos oriundos da desulfonização da SMZ foram encontrados em maior concentração ao longo dos experimentos. A SMZ não foi detectada após 40 minutos de reação na amostra aquosa. A degradação realizada no esgoto sintético apresentou diferenças significativas. O meio favoreceu a fotólise da SMZ e esta não foi mais detectada após 20 minutos de reação, ou seja, metade do tempo observado na degradação em água. A intensidade máxima foi superior a 60% da resposta inicial da SMZ. Esta diferença pode ter sido consequência da influência do esgoto sintético na fotólise, da extração, da ionização em MS, ou uma associação destas. Tanto na degradação realizada em água, quanto na realizada em esgoto sintético mesmo após uma hora de exposição à radiação ultravioleta, os intermediários não foram totalmente degradados, persistindo no meio. A pré-concentração de intermediários formados durante a degradação fotoquímica da sulfametazina, permitiu a avaliação da degradação dessa em uma concentração até 160 vezes menor que os trabalhos já publicados que abordaram rotas de degradação da SMZ. O perfil de degradação em diferentes concentrações apresenta indícios de ser diferente, tanto em cinética quanto na composição proporcional entre os produtos formados. Esses resultados são promissores, visto que permitem uma aproximação às concentrações ambientalmente relevantes.

Agradecimentos: IQSC, FAPESP (2010/19910-9), CNPq (485370/2011-5) e CAPES.

ESTUDO DE DEGRADAÇÃO FORÇADA DA INSULINA HUMANA UTILIZANDO A TÉCNICA ESI-MS

Ana Paula Borgo^{1,2}; Phellipe Honório Amaral^{1,2};
Marcos Nogueira Eberlin², Nelci Fenalt Höehr¹

¹Departamento de Patologia Clínica, Faculdade de Ciências Médicas, UNICAMP

²Laboratório Thomson de Espectrometria de Massas, UNICAMP

apborgo@gmail.com

A insulina é um hormônio sintetizado pelas células B-pancreáticas que promove o controle dos níveis de glicose no sangue. Possui peso molecular de 5808 Da e é constituída por 51 aminoácidos em duas cadeias polipeptídicas a cadeia A com 20 aminoácidos e a cadeia B 31 aminoácidos. Segundo a RDC 58, de 20 de dezembro de 2013 quaisquer impurezas resultantes de alterações químicas devido a efeitos da luz, temperatura, pH, umidade e das características inerentes do fármaco, da reação com os excipientes ou devido ao contato com embalagem primária são chamadas de produtos de degradação. A degradação forçada deve ser realizada utilizando fármaco isolado, na formulação e o placebo e submetidos a condições de hidrólise ácida, básica, umidade, aquecimento, exposição fotolítica, solução oxidante. O ensaio foi realizado utilizando um espectrometro de massas triploquadrupolo marca Waters, modelo quatromicro, por infusão direta com fonte de electrospray no modo de aquisição de íons positivo. O espectro de ESI(+)-MS mostra o íon de m/z 1162 (+5) e o 969 (+6) característico da molécula de insulina, foi utilizado um padrão Sigma Aldrich da insulina recombinante humana na concentração de 1 µg.ml⁻¹. O estudo de degradação forçada foi realizado com base na RDC 58 para avaliarmos os produtos comercializados nos dias de hoje no Brasil, as amostras apresentam produtos de degradação não encontrados na literatura, em virtude dos estudos apresentados serem pela técnica de cromatografia líquida de alta eficiência (conforme método farmacopeico para o produto) diferente do proposto neste trabalho, pois a técnica de espectrometria de massas mostra a razão massa-carga dos produtos o que facilita a atribuição molecular e estrutural dos compostos. Além de ser uma técnica rápida para a análise de produtos de degradação, não só para a insulina mas para produtos farmacêuticos, como dificuldade encontrada no trabalho é diferenciar os produtos de degradação de possíveis fragmentações ocorridas na fonte do equipamento por se tratar de uma cadeia polipeptídica. Assim espectros de ESI(+)- MS/MS foram necessários para tal atribuições.

Agradecimentos: Faculdade de Ciências Médicas, UNICAMP, THOMSON Mass Spectrometry Laboratory, LABMASS Laboratory.



ESTUDO DE DEGRADAÇÃO FORÇADA DE RIFAMPICINA, EM CÁPSULAS, ASSOCIADAS A ISONIAZIDA POR HPLC-DAD

Artur S. Oliveira, Dayanne L. Porto,
Marcelo P. Amorim, Carlos J. Lima

*Universidade Federal do Rio Grande do Norte,
NUPLAM-Núcleo de Pesquisa em Alimentos e Medicamentos, 59078-970, Natal-RN
arturso9@gmail.com*

A rifampicina é um fármaco utilizada no combate à tuberculose de forma associada com outros fármacos ou isolada. Na busca pelo desenvolvimento de medicamentos com segurança, qualidade e eficácia, a avaliação de possíveis produtos de degradação em fármaco e medicamento é realizada, através de estudos de degradação forçada em diferentes condições ambientais (luz, temperatura, calor, umidade, hidrólise ácida/básica e oxidação) e vem sendo implementada no Brasil a partir da publicação da RDC N°58 de 20 de dezembro de 2013 - ANVISA/MINISTÉRIO DA SAÚDE. A degradação forçada também é útil no desenvolvimento de métodos de indicação de estabilidade para os fármacos e medicamentos. Neste foi avaliado um método a ser utilizado como indicativo de estabilidade na quantificação de rifampicina em produto acabado, bem como avaliar a produção de produtos de degradação frente condições de estresse. Para tanto foi utilizado HCl 0,1N (10 mL), NaOH 0,1N (10 mL), H₂O₂ 3% (10 mL), câmara de estabilidade para controle da umidade (35%), câmara de UV (254nm + luz ambiente), banho termostático (50°C) como fatores para a degradação ácida, básica, oxidativa, úmida, fotolítica e térmica, respectivamente. As amostras foram solubilizadas em 10 mL de metanol e diluídas em tampão fosfato e para cada condição de degradação expostas por 1 a 3 dias ou até obter degradação entre 10% a 30%. A metodologia analítica estudada tratou-se de uma adaptação da farmacopéia americana (USP) para detecção de rifampicina e dos produtos de degradação através de HPLC-DAD utilizando coluna C18 de 25 cm x 4,6mm; 5,0um, fluxo de 1,5 mL/min e fase móvel contendo tampão fosfato de sódio pH 6.8 e acetonitrila (55:45) à 24°C, em comprimento de onda 238nm e injetando-se 20uL. O tempo de corrida da análise foi dobrado para avaliação dos produtos de degradação. Na hidrólise ácida o medicamento apresentou degradação superior a faixa estabelecida nos tempos analisados e, portanto, teve tempo de exposição reduzido para a cada uma hora apresentando decaimento de aproximadamente 15% em 3 horas de exposição ao ácido, já o fármaco resistiu por 24h. Para a hidrólise básica, o fármaco apresentou decaimento de 26% em 24h, enquanto que o produto acabado apenas 11%. Para a degradação oxidativa, o fármaco em 24h não obteve decaimento suficiente e analisou-se em 48h obtendo-se 12% de decaimento e para o medicamento os valores de 18% em 24h e 36% em 48h. Nas degradações térmica, fotolítica e úmida durante o período de 3 dias não foram encontradas quedas superiores a 5%. As degradações ácida e básica mostraram-se bastante efetivas e a rifampicina mostrou-se bastante resistente a degradação oxidativa, sendo necessários novos estudos sobre identificação dos produtos formados. O método avaliado de quantificação de rifampicina apresentou-se seletivo a partir dos produtos de degradação formados.

Agradecimentos: Ao NUPLAM (Núcleo de Pesquisa em Alimentos e Medicamentos) pela disponibilização do material e espaço físico.

DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE MÉTODO ANALÍTICO POR CROMATOGRAFIA LIQUIDA DE ULTRAPERFORMANCE PARA A DETERMINAÇÃO DE ANTI-HIPERTENSIVOS

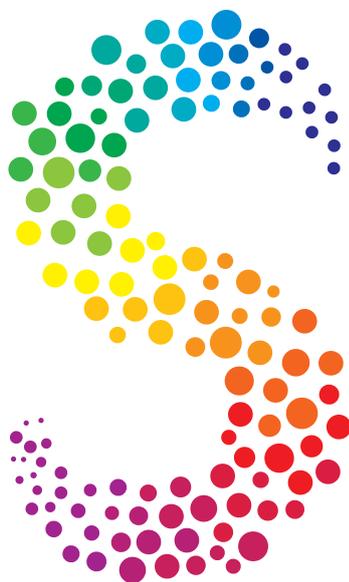
Claudia Vilela de Oliveira, Adriano Peron*, Erika Rosa Maria Kedor-Hackmann,
María Inês Rocha Miritello Santoro, María Segunda Aurora-Prado

*Departamento de Farmácia, Faculdade de Ciências Farmacêuticas,
Universidade de São Paulo, P.O. Box 66355, 05508-000, São Paulo*

**Agilent Technologies Life Sciences, Barueri, São Paulo
e-mail: claudia.vile@usp.br*

A hidroclorotiazida e o tartarato de metoprolol são diurético e betabloqueador respectivamente, eles são prescritos em associação como agentes anti-hipertensivos. E esta combinação demonstrou maior efetividade que qualquer outro fármaco aplicado isoladamente. O objetivo deste estudo foi desenvolver e validar um método rápido e preciso por cromatografia líquida de ultra performance (UHPLC - modelo 1290 Infinity com bomba quaternária) para análise de fármacos anti-hipertensivos (tartarato de metoprolol e hidroclorotiazida). As análises foram realizadas utilizando a coluna ZORBAX SB C18 (50 mm x 2,1 mm, 1,8 µm), a fase móvel foi constituída de acetonitrila:água (17:83v/v), pH 3,0 ajustado com ácido ortofosfórico, a velocidade do fluxo foi 0,9 ml/min à temperatura de 25°C e detecção por UV em 225 nm. Estudos de linearidade, limites de detecção e quantificação, precisão e especificidade foram realizados de acordo com as diretrizes estabelecidas pelo International Conference on Harmonization. A especificidade do método foi avaliada após os testes de degradação forçada dos fármacos, em hidrólise neutra (H₂O), ácida (1 mol L⁻¹ HCl), básica (1 mol L⁻¹ NaOH) e oxidativa (3% H₂O₂). Os analitos foram separados em aproximadamente 1 min. Os resultados obtidos demonstraram que o método apresentou excelente linearidade com coeficientes de determinação R² > 0.99 no intervalo de concentrações de 10,0 a 15,0 µg.mL⁻¹ para hidroclorotizida, e de 80,0 a 120,0 µg.mL⁻¹ para tartarato de metoprolol, a precisão (intra-dia) expressa em termos de porcentagem de desvio padrão relativo (RSD), foi menor que 2%. Após o estudo de degradação forçada foi possível verificar a formação de produtos de degradação em hidrólise ácida, básica e oxidativa, detectados em 0,5 e 0,6 min. A pureza cromatográfica foi avaliada e verificou-se que os produtos de degradação formados não interferem na quantificação dos analitos em estudo. O método desenvolvido pode ser utilizado para determinação da hidroclorotiazida e do tartarato de metoprolol em medicamentos e também como método indicativo de estabilidade.

Agradecimentos: Agilent Technologies, CNPq, FAPESP.



SEÇÃO E

INFLUÊNCIA DO ESTÁDIO DE MATURAÇÃO E DO TEMPO DE ESTOCAGEM NO PERFIL DE VOLÁTEIS DA BUTIA CAPITATA

Maria Clara S. Aguiar, Flaviano O. Silvério, Gevany P. Pinho,
Paulo S. N. Lopes, Paulo H. Fidêncio, Sílvia J. Ventura

Instituto de Ciências Agrárias, UFMG, Montes Claros - MG, Brasil

Departamento de Química, UFVJM, Diamantina - MG, Brasil

mariaclara_sa@yahoo.com.br

A *Butia capitata* (Mart) Becc. é uma frutífera nativa do bioma cerrado, com fruto nutricionalmente rico em carotenoides, ácidos graxos, minerais, ácido ascórbico e compostos fenólicos. Comercialmente, os frutos são bastante valorizados devido a coloração e aroma característico. Entretanto, não há relatos na literatura científica sobre os componentes voláteis do headspace deste fruto. Dessa forma, com este trabalho, busca-se caracterizar qualitativamente os compostos voláteis da *B. capitata* sob diferentes estádios de maturação e condições de estocagem. Foram utilizados frutos frescos agrupados em quatro estádios de maturação baseados na coloração do epicarpo (0, 25, 50 e 100 % com coloração amarela). Na análise da produção dos compostos voláteis em função do tempo de armazenamento, os frutos colhidos com 25 % do comprimento com coloração do epicarpo amarela foram acondicionados em estufa incubadora DBO à 25 °C por três e seis dias. Os compostos voláteis foram isolados por headspace, separados, quantificados e identificados por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas. Na polpa foram detectados 23 compostos voláteis no fruto com o epicarpo completamente maduro. Dois compostos (decanoato de metila e decanoato de etila) foram detectados pela primeira vez nos compostos voláteis do fruto da *B. capitata*, apenas quando submetidos a armazenamento sob condições controladas. Foi verificada, em frutos com o epicarpo verde, a presença de compostos mais oxidados (ácidos carboxílicos). Entretanto, com o decorrer da maturação estes compostos não foram detectados e os ésteres foram predominantemente identificados. O período de armazenamento controlado resultou em um crescimento de 165 % na extração do hexanoato de etila e de 6083 % do butanoato de etila, em relação aos valores encontrados em frutos com 25 % do epicarpo maduro. Entretanto, ocorreu redução de 38 % na extração do hexanoato de metila, 33,0 % na extração do butanoato de pent-4-enila e 25,0 % na extração do hexanoato de pent-4-enila. As diferenças na composição de voláteis da polpa durante a maturação e condições de estocagem indicaram a influência destes na biossíntese dos compostos responsáveis pelo aroma da fruta.

Agradecimentos: Os autores agradecem a FAPEMIG, CNPq e CAPES.



COMPOSIÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE INFLORECÊNCIAS DE CYMBOPOGON DENSIFLORUS CULTIVADO NO BRASIL

Villela, P.; Silveira, J. V. W.; Pinto N. A. V. D.; Canuto M. H.; Bogusz, S.*

Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM), Diamantina-MG, Brasil.

**sjbogusz@gmail.com*

Cymbopogon densiflorus é uma espécie cespitosa, anual, com lâminas foliares planas e glabras. Colmos eretos, de 70-200 cm, levemente pêndulo devido à densa inflorescência que é abundantemente ramificada^[1]. Planta originária da África tem suas folhas e inflorescências tradicionalmente utilizadas para tratar de várias doenças naquele continente, como asma, febre, resfriados, epilepsia, cólica e dores abdominais. Bem adaptada no sudeste brasileiro, na região de Diamantina – MG é cultivada por cooperativas agroindustriais para extração comercial de seu óleo essencial, que é empregado em formulações domissaniantes e cosméticas. Em termos de atividade biológica do seu óleo essencial, Takaisi-Kikuni et al. (2000) descreveram um amplo espectro antibacteriano tanto sobre bactérias gram-positivas como gram-negativas^[2]. Entretanto, poucos são os trabalhos na literatura que se ocuparam da identificação dos componentes presentes no seu óleo essencial, e no melhor de nosso conhecimento, não existem descrições em artigos científicos que relatam a composição do óleo essencial de plantas cultivadas no Brasil. Assim, o objetivo desta pesquisa foi investigar, pela primeira vez, a composição do óleo essencial de *C. densiflorus* cultivado na região de Diamantina-MG, Brasil. Para isso, inflorescências da planta foram colhidas no mês de julho de 2014, e imediatamente transportadas para o Laboratório de Produtos Naturais do Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM) onde foram hidrodestiladas em aparelho de Clevenger por 2 horas. O óleo essencial obtido foi seco em sulfato de sódio anidro e apresentou rendimento de 1,2%. Após, o óleo essencial foi diluído em diclorometano a uma concentração de 30% e foi analisado em um Cromatógrafo a Gás acoplado a Espectrômetro de Massas Quadrupolar - CLARUS SQ8T MS (Perkin Elmer), segundo metodologia proposta para análise de óleos essenciais por Adams (2010)^[3]. O óleo apresentou a seguinte composição em termos de compostos majoritários: limoneno, 1-isopropenil-4-metilbenzeno, cimeno, carveol, carvona, trans-p-menta-1(7),8-dien-2-ol e cis-p-menta-2,8-dien-1-ol. Estes resultados embora preliminares revelam o potencial fitoquímico para estudo do óleo essencial de *C. densiflorus* quanto a atividade antimicrobiana, antioxidante, antiinflamatória e atitumoral.

Referencias

- [1] Barbosa, L.C.S; et al., Anatomia Foliar de *Cymbopogon densiflorus* (Steud.) Stapf e *C. nardus* (L.) Rendle (Poaceae:Panicoideae). 2006. III Congresso de Pesquisa, Ensino e Extensão - CONPEEX, 2006, Goiânia.
- [2] Takaisi-Kikuni, N. B. et al., Antibacterial activity of the essential oil of *Cymbopogon densiflorus*. 2000. *Fitoterapia*, 71, 69–71.
- [3] Adams, R. Identification of Essential Oils Components by Gas Chromatography/Mass Spectroscopy. Allured Publishing, Carol Stream, IL. 2001.

COMPOSTOS VOLÁTEIS DE BAUHINIA FORFICATA L.

Duó - Bartolomeu, A. C.; Fiori, G.M.L.; Bastos, D.V.; França, S. de C.;
Pereira, A.M.S.; Taleb - Contini, S. H.

Unidade de Biotecnologia - UNAERP - Universidade de Ribeirão Preto - SP - Brasil

Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto - USP - Brasil

anatterra.duo@gmail.com

Bauhinia forficata Link, conhecida como “pata de vaca”, é a espécie mais estudada do gênero Bauhinia e está amplamente distribuída pela Ásia, África e América do Sul. Integra a Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse do Sistema Único de Saúde (RENISUS), sendo recomendada para reduzir os níveis de glicose em pacientes diabéticos. A atividade hipoglicemiante de B. forficata L. tem sido atribuída aos flavonóides, e os sesquiterpenos são a classe de substâncias majoritárias do óleo volátil de B. forficata L. (BATISTA et al, 2013). Até o momento não se sabe quais os compostos voláteis estão presentes na infusão de B. forficata L. comumente utilizada pela população na forma de chá. Dessa forma, os objetivos desse trabalho foram identificar os compostos voláteis presentes na infusão das folhas secas de B. forficata Link e avaliar a influência de dois métodos de secagem liofilização e secagem por aspersão (spray drying) no perfil qualitativo de compostos voláteis das infusões. Os voláteis das folhas secas de B. forficata foram extraídos por microextração em fase sólida (MEFS), com fibra PDMS, temperatura de 60°C e tempo de 30 min (SILVA, 2009). As análises foram realizadas em cromatógrafo gasoso acoplado ao espectrômetro de massas (CG-EM), modelo Varian/Saturn 3900/2100, equipado com injetor split (250°C), utilizando coluna DB-5MS, hélio como gás carreador (fluxo de 1,41mL/min) e split 1/20. O aquecimento da coluna seguiu a seguinte programação de temperatura: 60-240°C a 3°C/min. A fibra permaneceu exposta na câmara de injeção durante 3 min. A identificação das substâncias foi baseada na comparação entre os Índices de Kovats (IK), o espectro de massas (ADAMS, 1995) e por comparação dos espectros de massas registrados em banco de dados - NIST 62. Os compostos voláteis identificados do material vegetal foram o germacreno-D, biciclogermacreno, β -elemeno, trans-cariofileno, e α -humuleno; das infusões, o espatulenol, trans-nerolidol, β -ionona, e β -elemeno. Conclui-se que o método de análise e extração foi adequado para analisar os voláteis presentes na infusão de B. forficata L. e que os métodos de secagem, nas condições para uso comum, influenciam na composição da infusão.

Referências

ADAMS, R. P. Identification of essential oils by ion trap mass spectrometry. New York: Academic Press, 1995.

BATISTA, P. N.; et al., Systematic review: uses, applications and therapeutic trends of Bauhinia forficata Link. Vedic Research International Phytomedicine, 1: 64-72, 2013.

FINANCIAMENTO: CAPES.



VALIDAÇÃO DE MÉTODO PARA ANÁLISE DE 2-FURFURILTIOIOL, TIOFENO E DIMETIL DISSULFETO POR CG-QEM

Thaís M. Uekane*, Maria Helena Miguez da Rocha Leão e Claudia M. Rezende

Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro - RJ - Brasil e

Escola de Química Universidade Federal do Rio de Janeiro - RJ - Brasil

**thais.uekane@gmail.com*

Em geral, 10% dos compostos voláteis detectados em alimentos e bebidas são compostos sulfurados e impacto aromático característico é notável nos diferentes produtos onde estão presentes. Uma busca realizada na base de dados SciFinder®, utilizando como palavras-chave café torrado e aroma sulfurado, obteve como resultado os compostos 2-furfuriltiol (2-FFT), dimetil dissulfeto (DMDS) e tiofeno (TIO) como os mais citados. A validação de um método envolve o processo de avaliação do método proposto, de modo que o mesmo atenda às exigências das aplicações analíticas, assegurando a confiabilidade dos resultados, sendo etapa necessária para implementação de legislações. O objetivo do presente trabalho foi validar, no laboratório, um método para análise das soluções padrões de 2-FFT, TIO e DMDS por CG-qEM utilizando como guia o documento DOQ-CGCRE-008 Rev 03, Fev/2010. A seletividade foi assegurada através da utilização do modo de monitoramento seletivo de íons (SIM) no método do CG-qEM. A linearidade foi confirmada através do coeficiente de correlação, análise de resíduos e avaliação da homocedasticidade obtidos pela equação de regressão linear utilizando as faixas de trabalho 15-200 µg/mL para 2-FFT, 20-300 µg/mL para TIO e 30-200 µg/mL para DMDS. O LD, avaliado pela relação sinal/ruído igual a 3, foi 10 µg/mL para 2-FFT e 5 µg/mL para TIO e DMDS. O LQ, avaliado pela relação sinal/ruído igual a 10, foi 15 µg/mL para 2-FFT e 10 µg/mL para TIO e DMDS; essas concentrações se encontram de acordo com os valores de emprego do método. A exatidão, avaliada através de ensaios de recuperação em três concentrações para cada analito foi em média 110% para 2-FFT, 100% para TIO e 97% para DMDS, considerados adequados. A precisão, avaliada através do desvio padrão relativo (DPR) para repetitividade (intraday) precisão intermediária (interday) e reprodutibilidade (variando dia de análise e solvente utilizado) ficou <2% para os três analitos, considerada adequada para o método proposto. Como critério de avaliação para a estabilidade foi utilizada uma variação de até 20 %. Para o 2-FFT observou-se estabilidade em freezer até o período de 60 dias, em geladeira até 24 dias, e em temperatura ambiente por 8 dias, sendo observado bis-2-furfuril disulfeto como produto de degradação. Para o TIO observou-se estabilidade em temperatura de freezer, geladeira e ambiente até 25 dias. Para o DMDS observou-se a estabilidade em temperatura de freezer e geladeira até 8 dias e temperatura ambiente até 4 dias. Como conclusão, os parâmetros de validação, incluindo estabilidade, obtidos encontraram-se dentro dos critérios de aceitação estabelecidos para os três analitos.

Agradecimentos - Os autores agradecem a CAPES, ao CNPQ a FAPERJ e à Pós Graduação de Ciência de Alimentos - IQ - UFRJ.

PERFIL CROMATOGRÁFICO DE FRUTAS EXÓTICAS ENCONTRADAS NO BRASIL POR CG-QEM

Luis Felipe A.G. Silva, Thaís M. Uekane* e Claudia M. Rezende

Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro - RJ - Brasil e

Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro - RJ - Brasil

**thais.uekane@gmail.com*

O Brasil é o terceiro maior produtor de frutas do mundo, com grande volume de exportação, principalmente para a União Européia. As frutas exóticas ainda representam pequeno volume no mercado internacional, entretanto, no país está ocorrendo um aumento em sua comercialização, devido ao seu sabor e aroma típicos. As frutas exóticas murici (*Byrsonima crassifolia*), noni (*Morinda citrifolia*) mangaba (*Hancornia speciosa*), sapodilla (*Achras sapota*), bacuri (*Platonia insignis*) e abiu (*Pouteria Caimito*) podem ser encontradas na região Amazônica e em algumas regiões do Nordeste brasileiros. São consumidas in natura, em doces, licores, geleias, sucos e sorvetes. Alguns estudos apontam propriedades biológicas para murici, sapodilla, e a noni. A literatura científica é escassa com relação aos componentes voláteis destas frutas. Desta forma, o presente trabalho tem por objetivo realizar um perfil das substâncias voláteis utilizando a técnica de Cromatografia Gasosa com dois tipos de detectores: ionização em chama (DIC) e Espectrômetro de massas (EM). Para a extração dos compostos voláteis, a técnica de Microextração em Fase Sólida (SPME) com uma fibra trifásica, composta por polidimetilsiloxano, divinilbenzeno e carboxen (PDMS/DVB/CAR). Em um frasco, 2,0g da amostra foi pesado, no qual o headspace foi extraído por 30 min a uma temperatura de 50°C. Após este período, a fibra foi inserida no injetor do cromatógrafo gasoso a temperatura de 250°C para dessorção dos analitos, sendo separados por coluna DB-5 (30 m x 0,25 µm d.i.x 0,25 mm e.f., J&W). A identificação das substâncias voláteis foi realizada pelo cálculo do índice de retenção linear e por comparação dos espectros de massas obtidos. Como resultados preliminares, observou-se para murici a presença dos ácido butírico e ácido capróico, e do éster hexanoato de etila como mais abundantes; para noni os compostos principais foram o éster octanoato de metila e o ácido octanóico; para bacuri, o composto mais abundante foi o monoterpene linalol; para sapodilla, os alcoóis e ésteres apresentaram maior proporção no seu headspace; para mangaba os compostos majoritários foram o álcool etanol e o éster acetato de 3-metil-1-butila. Observadas diferentes classes de substâncias no perfil cromatográfico das frutas exóticas estudadas, estas podem contribuir para o aroma característico de cada uma delas. Para sapodilla, bacuri e abiu obteve-se uma melhor resolução dos analitos, porém para frutas como noni e murici, devido a sua maior composição de ácidos, melhores resultados cromatográficos seriam obtidos com o uso de colunas polares, ao invés da coluna de característica apolar utilizada. Assim, os dados obtidos indicam que estas frutas apresentam um aroma de interesse e podem contribuir positivamente para indústria de flavor, que utilizam diferentes componentes do aroma para formulações de fragrâncias e agentes flavorizantes usados em alimentos.

Agradecimentos - Os autores agradecem ao CNPQ e à Pós Graduação de Ciência de Alimentos - IQ - UFRJ.



COMPOSIÇÃO VOLÁTIL DAS FLORES DE COUROUPITA GUIANENSIS OBTIDA POR HEADSPACE DINÂMICO IN SITU

Silva, R. F.^{1,2}; Rezende, C. M.¹; Bizzo, H. R.^{3*}

¹Instituto de Química - UFRJ;

²Instituto de Pesquisas de Produtos Naturais – UFRJ;

³Embrapa Agroindústria de Alimentos

*humberto.bizzo@embrapa.br

O odor floral é um importante componente da biologia reprodutiva de muitas plantas e constitui uma das mais importantes matérias primas para a indústria de perfumaria. Contudo, a extração dos voláteis florais devido, entre outros fatores, à fragilidade deste tecido vegetal e às diminutas quantidades de substâncias produzidas, constitui um desafio para o estudo de sua composição química. As técnicas comumente empregadas, em que se faz uso de solventes ou aquecimento, podem introduzir artefatos que levam a descaracterização da composição real do odor floral, além de destruir o material vegetal. A técnica de extração headspace dinâmico com adsorção em polímero poroso é uma alternativa importante, uma vez que permite a captura dos voláteis sem o uso de aquecimento ou de solventes diretamente aplicados ao tecido vegetal, além de não danificar a espécie em estudo e possibilitar o estudo in situ. O objetivo do presente trabalho foi analisar qualitativamente a composição volátil das flores de *Couropita guianensis* Aubl. (Lecythidaceae) por meio da técnica headspace dinâmico in situ com adsorção em Porapak Q, com dispositivo de baixo custo adaptado em laboratório. A amostragem da espécie vegetal foi realizada em outubro de 2013, em indivíduo cultivado no Campus da UFRJ (Ilha do Fundão). Uma flor da espécie *C. guianensis* foi envolvida em um saco plástico (PET) e submetida à extração, no período de 10-12h, por headspace dinâmico com adsorção em Porapak Q[®] (5 mg). Após o período de extração, o adsorvente foi eluído com 60 µL de hexano para um microfrasco, que por sua vez foi armazenado em freezer até a análise. Após a extração, a flor amostrada permaneceu intacta no caule. A análise por CG/EM foi realizada logo após a extração, com a injeção de 1 µL do eluato em aparelho Agilent 6850N com detector de massas Agilent 5975C. Foi utilizada coluna capilar de sílica fundida, com fase DB-1 (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm) e hélio como gás de arraste a um fluxo constante de 1,0 mL/minuto. O forno cromatográfico foi programado de 40 °C (por 3 min.) a 240 °C (por 10 min.) em uma taxa de 3°C/minuto. O detector foi mantido a 280°C e o injetor a 250 °C. A injeção foi realizada em modo sem divisão de fluxo. A identificação das substâncias foi realizada por comparação de seu espectro de massas experimental com o da biblioteca de dados, em conjunto com o seu índice de retenção linear experimental e da literatura. A extração dos voláteis da flor de *C. guianensis* por headspace dinâmico com adsorção em Porapak Q resultou em 11 substâncias, entre as quais (E)-beta-ocimeno, nerol, neral, geraniol, geranial, eugenol e acetato de nerila. Segundo o conhecimento dos autores do presente trabalho, este é o primeiro relato da análise do headspace da flor de *C. guianensis*.

Agradecimentos – Embrapa, IPPN, CAPES, CNPq e Faperj

CHEMICAL EVALUATION OF THE ESSENTIAL OIL OF ALPINIA ZERUMBET VARIETIES

Thamires de A. de Souza¹, Aline A. Mpalantinos¹; Ana C. F. Amaral¹; Aline de S. Ramos¹;
José L. P. Ferreira¹, Jefferson R. de A. Silva²

¹Laboratório de Plantas Medicinais e Derivados, DQPN, Farmanguinhos, Fiocruz, RJ

²Laboratório de Cromatografia, Depto de Química, UFAM

jrocha_01@yahoo.com.br

Alpinia zerumbet Pers. (Zingiberaceae) is a native species of East Asia that is widely distributed in Brazil, where it was introduced during the colonial period. Recent studies have shown several pharmacological activities related to its essential oil, however there are few reports of comparison of the chemical constituents of the varieties within species. In this context, the study aims to evaluate the chemical composition of the essential oil from the leaves of *Alpinia zerumbet* compared to the oil of *Alpinia zerumbet* var. *variegata*., in order to define parameters that allow their differentiation. The leaves of *A. zerumbet* and its variety *variegata* were collected in 2013 on the Campus of FIOCRUZ (Rio de Janeiro, Brazil). The essential oil was obtained by hydrodistillation in a Clevenger-type apparatus and qualitative analysis was carried out on a chromatograph model HP7590 A (Agilent Technologies, USA) equipped with mass spectrometer model HP5972 A, according to these experimental conditions: silica capillary column DB 5MS (30 m x 0,32 µm; film thickness, 0,25 µm); injection of 1 µl of sample; temperature program: 40 °C (5 min)-290 °C, 4 °C min⁻¹; helium as carrier gas with a flow rate of 0.5 mL min⁻¹; electron impact: 70 eV. The chromatograms analysis indicated qualitative differences in the composition of the essential oils of the two varieties: alpha-terpinene (3.9%), gamma-terpinene (14.7%) and alpha-terpinolene (2.1%) were identified in *A. zerumbet*, while camphor (3.1%) was detected in the variety *variegata*. The other substances identified were common to both oils, predominantly 1,8-cineole (42.0%) in *A. zerumbet* var. *variegata* and 4-terpineol (21.2%), 1,8-cineol (18.1%), gama-terpineno (14.8%) and sabineno (14.2%) in *A. zerumbet*. The results demonstrated that it is possible to distinguish the two varieties of *A. zerumbet* by GC/ MS analysis of their essential oils.

Acknowledgements: CNPq.

COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *OCIMUM SELLOI* INCORPORADO EM DIETAS ARTIFICIAIS OFERTADAS A *SPODOPTERA FRUGIPERDA*

Claubert Wagner Guimarães de Menezes¹, Geraldo Andrade Carvalho², Joyce Pereira Alvarenga¹,
Ellison Rosario de Oliveira¹, José Eduardo Brasil Pereira Pinto¹, Suzan Kelly Vilela Bertolucci¹

¹Departamento de Agricultura, ²Departamento de Entomologia,
Universidade Federal de Lavras – UFLA, Lavras, 37200-000, Minas Gerais, Brasil
suzan@dag.ufla.br, claubertmenezes@posgrad.ufla.br

Óleos essenciais botânicos são uma alternativa atraente como fonte de moléculas para uso na agricultura, pois apresentam potencial inseticida. Objetivou-se caracterizar a composição química qualitativa e quantificar o conteúdo de estragol no óleo essencial das folhas de *Ocimum selloi* Benth (Lamiaceae) incorporado em dietas artificiais ofertadas a lagarta do cartucho do milho, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). O óleo essencial de folhas de *O. selloi* foi extraído por arraste a vapor por 1,5 h. Solução padrão de hidrocarbonetos lineares (C₈-C₂₀) e soluções a 1% (v/v) do óleo essencial solubilizado em acetato de etila ($n = 3$) foram analisados por cromatografia gasosa com detector por ionização em chama (CG/FID) e com detector de espectrometria de massas (CG/EM), equipado com uma coluna capilar HP-5MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm). O óleo essencial de *O. selloi* foi adicionado na dieta artificial nas doses de 520,00 µg.mL⁻¹ e 600,00 µg.mL⁻¹, e oferecido para as larvas de 48 h de idade de *S. frugiperda*. O tratamento controle consistiu da dieta sem adição do óleo essencial. Foram identificados 12 constituintes, sendo o majoritário o estragol, cuja concentração no óleo foi de 92,53±0,13%. Os demais constituintes incluem α-copaeno, β-bourboneno, metil eugenol, β-cariofileno, *trans*-β-bergamoteno, aloaromadendreno, germacrene D, γ-elemene, β-bisaboleno, δ-cadineno e espatulenol. *Spodoptera frugiperda* alimentadas com a dieta acrescida da dose de 600,00 µg.mL⁻¹ de óleo essencial permaneceram no estágio larval por 17 dias, enquanto que no tratamento controle foi de 13 dias. O período pupal foi de 10 dias com a dose de 520,00 µg.mL⁻¹ de óleo essencial na dieta. O óleo essencial de *O. selloi* afetou a biologia de *S. frugiperda* e tem potencial como fonte de novas moléculas inseticidas.

Agradecimentos: FAPEMIG, CNPq E CAPES.

ESTUDO COMPARATIVO DA CARACTERIZAÇÃO DA *ILEX PARAGUARIENSIS* UTILIZANDO GC E GCXGC

Jennifer Unfer do Carmo*, Enelise E. Scapin, Mateus S. Salvador,
Leidimara Pelisson, Rosângela A. Jacques, Elina B. Caramão

*Laboratório de Química Analítica Ambiental e Oleoquímica – Instituto de Química
Universidade Federal do Rio Grande do Sul – Brasil
jenniferunfer@gmail.com*

A erva mate (*Ilex Paraguariensis*) é uma planta originária da América do Sul, consumida habitualmente na Argentina, Paraguai, Uruguai e Brasil. A erva mate premium é produzida somente com folhas nativas de ervas selecionadas e extraídas na safra de inverno, período de melhor qualidade e de maturação total da erva mate. A principal característica da infusão de erva mate está relacionada com a composição de substâncias voláteis. Este trabalho teve como objetivo comparar os resultados da caracterização dessas substâncias voláteis por meio de cromatografia monodimensional e bidimensional. O óleo essencial foi extraído por hidrodestilação em um sistema de Clevenger. Após a hidrodestilação seguiu-se para a extração líquido-líquido com n-hexano. A amostra de óleo essencial foi então analisada por GC x GC/qMS equipado com um modulador ZX1-GC x GC. Este modulador utilizou nitrogênio líquido para o jato frio e nitrogênio gasoso para o jato quente (ativado por um período de 4 segundos). A separação cromatográfica na primeira dimensão foi realizada em uma coluna apolar OV-5, 5% Fenil e 95% Metilpolisiloxano (60 m x 0.25 mm d.i. x 0.10 µm espessura de filme). Na segunda dimensão foi utilizado uma coluna polar DB - 17, 50% Fenil e 50% Metilpolisiloxano (2.15 m x 0.18 mm x 0.18 µm). Os compostos foram identificados utilizando o índice de retenção de Van Den Dool and Kratz. Este índice foi obtido através da co-injeção de uma mistura contendo n-alcenos (C6-C30), e calculado usando a equação de Van Den Dool. Os resultados mostraram-se promissores para a GC x GC/qMS quando comparada com a GC/qMS, pois a quantidade de compostos foi aproximadamente 3 e 9 vezes maior, respectivamente, para os compostos identificados e tentativamente identificados. Adicionalmente, pode-se também verificar que os compostos majoritários na fração volátil da erva mate foram Eucaliptol, Geraniol e o Limoneno, dentre os 670 compostos tentativamente identificados na GC x GC/qMS.

Agradecimentos: CNPQ, CAPES, FAPERGS, PETROBRAS, UFRGS.



EFEITO DA COMPOSIÇÃO FÍSICO-QUÍMICA NA FRAÇÃO VOLÁTIL DA POLPA DE BUTIA ODORATA

Tassiane dos Santos Ferrão¹; Daniele de Freitas Ferreira¹; Roger Wagner¹

¹*Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos – Centro de Ciências Rurais,
Universidade Federal de Santa Maria, 97105-900, Santa Maria - RS, Brasil
e-mail - rogerwag@gmail.com*

A formação dos compostos voláteis (CV) oriundos do metabolismo secundário do fruto tem forte correlação com a composição físico-química. Este estudo avaliou a correlação da composição físico-química na fração volátil de 4 genótipos de butiás de duas regiões (Santa Maria e Santa Rosa) do Rio Grande do Sul-BR em 3 safras (2009, 2010 e 2011). Foi realizada a determinação dos parâmetros de cor L, a, b, Ângulo Hue e Cromo, da composição centesimal e dos parâmetros de qualidade (sólidos solúveis totais-SST, pH e acidez total titulável) conforme AOAC. Os lipídios da polpa foram extraídos utilizando mistura de clorofórmio/metanol/água e, então, derivatizados através de solução metanólica de KOH (0,4M) seguido por H₂SO₄ (1M) em metanol. Os ésteres metílicos dos ácidos graxos (EMAG) foram determinados por GC-FID (Varian-3400CX) em coluna capilar de fase polar (polietilenoglicol) e identificados por comparação dos tempos de retenção com padrões autênticos. Os compostos voláteis foram isolados da polpa previamente centrifugada (5 mL), adicionada de 30% de NaCl, pela técnica de SPME. A fibra DVB/Car/PDMS foi exposta por 45 minutos à 35 °C. Os CV foram desorvidos no injetor do cromatógrafo e separados em coluna capilar (CP-WAX). Os analitos foram quantificados em GC-FID, com uso de 3-octanol (82,22 mg/L) como padrão interno e a identificação procedeu em GC/MS (Shimadzu-2010-Plus) pela comparação dos espectros de massa experimentais com os da literatura e dos índices de retenção. Foi realizada uma análise de componentes principais (ACP) com 8 amostras e 81 variáveis (composição físico-química e volátil) obtendo 49,02% da variância total dos dados. A ACP possibilitou a parcial separação das amostras em 2 grupos, apontando a região de origem da planta como fator de separação. Porém, não foi observado influência da safra. As amostras de Santa Rosa diferiram-se pelo elevado teor de lipídios, cinzas, EMAG C12, C14 e C16, CV 3-metilbutanol, (Z)3-hexenol, (E)2-hexenoato de metila e pelos escores de cor com tendência ao amarelo (b). Enquanto as polpas de Santa Maria apresentaram maiores concentrações de SST, EMAG C18:3n3c e ésteres (E)2-butenato de etila e (E)2-hexenoato de etila. Observou-se uma correlação positiva entre o conteúdo de proteína e os CV provenientes do metabolismo de aminoácidos (3-metilbutanal e acetaldeído). O mesmo ocorreu com o maior teor de SST (Santa Maria) e os CV originados no metabolismo de glicídios (ácido acético, etanol e butanol). O EMAG linolênico apresenta alta correlação com ésteres e álcoois de 6 carbonos e uma instauração (3(Z)-hexenol e 3(E)-hexenoato de etila). Já o linoleico localizou-se próximo a ésteres provenientes de sua β-oxidação como os ésteres de propila, butila e hexanoatos. Como o hexenoato de etila, CV majoritário na fruta, responsável pelo aroma característico do butiá. Estas informações são relevantes para a elucidação da formação dos CV na fruta.

Agradecimentos: CNPq; Capes; Fapergs.

CROMATOGRAFIA CONTRACORRENTE: UMA TÉCNICA EFICIENTE NO ISOLAMENTO DE METABÓLITOS DE *EUGENIA UNIFLORA*

Victor Hugo Aquino^{1*}, André M. Marques¹, Maria Raquel Figueiredo¹, Maria Auxiliadora C. Kaplan²

¹Laboratório de Produtos Naturais, PN3, Far-Manguinhos, FIOCRUZ, RJ. Brasil

²Núcleo de Pesquisas de Produtos Naturais, UFRJ, Rio de Janeiro, RJ. Brasil

A espécie *Eugenia uniflora* L., popularmente conhecida como pitanga, pertence à família *Myrtaceae*. *E. uniflora* é uma planta nativa do Brasil, de frutos comestíveis muito conhecida e apreciada. A essência de pitanga possui valor econômico agregado para a indústria de perfumes, sendo muito utilizada em produtos cosméticos, sabonetes e shampoos. Além de possuir um aroma característico, o óleo essencial das folhas de pitanga tem aplicação na medicina popular com propriedades hipotensoras, sendo também utilizado contra febre e certos tipos de infecção. O objetivo trabalho é promover a separação de metabólitos especiais majoritários presentes no óleo essencial de *Eugenia uniflora* L. A planta foi coletada no campus da Fundação Oswaldo Cruz e submetida, ainda fresca, à hidrodestilação durante duas horas em aparelho de Clevenger modificado. O óleo essencial foi inicialmente submetido à cromatografia em fase gasosa como detector ionização de chamas para avaliar o perfil químico do óleo essencial. Cromatografia com fase gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM) foi utilizada para a caracterização dos componentes da mistura. O óleo obtido (1g) foi submetido à cromatografia de distribuição em contracorrente para o isolamento de seus componentes majoritários, os sesquiterpenos (-)-selina-1,3,7(11)-trien-8-ona e (-)-oxidoselina-1,3,7(11)-trien-8-ona. Esses metabólitos representam, 33% e 25% dos 53 componentes presentes na mistura, respectivamente. Foi utilizado um aparelho HSCCC para a separação dos componentes. O sistema de solvente escolhido, o mais apropriado para substâncias de baixa polaridade foi hexano/acetoneitrila 1:1 (v/v). Foram coletadas 120 frações, sendo 80 delas obtidas com rotação de 860 rpm e as últimas 40 obtidas com a rotação desligada. As frações obtidas foram analisadas após cromatografia em camada delgada e por CG-FID e CG-EM. A análise das frações 83-94(120mg) e 75-81(75mg) obtidas utilizando-se acetoneitrila como fase estacionária mostrou um teor de pureza de 98,67 % e 93,14% de (-)-oxidoselina-1,3,7(11)-trien-8-ona, respectivamente. Quando se utilizou hexano como fase estacionária foi possível obter as frações 23-27(170mg) com teor de pureza de 94,63% de (-)-oxidoselina-1,3,7(11)-trien-8-ona. As frações reunidas 32-34 (102mg) e 35-41(262mg) mostraram conter (-)-selina-1,3,7(11)-trien-8-ona em 89,40% e 93,16% de pureza. Os isolados em quantidade foram analisadas por RMN e serão enviadas para ensaios biológicos. A técnica de cromatografia contracorrente foi eficiente na separação de sesquiterpenos de estrutura e polaridade muito similares em um curto espaço de tempo, com economia grande economia de solvente e com alto teor de pureza.

Agradecimento: Agradecemos à CAPES e ao CNPq.



ESTUDO DO PERFIL CROMATOGRÁFICO DOS VOLÁTEIS DE ESPÉCIES DE PIPER EMPREGADAS PARA O PREPARO DE CHÁS

Anai L. dos Santos¹; Allan Polidoro¹; Michele E. da Cunha¹; Jaderson, K. Schneider¹;
Valéria. F. Peres²; Elina B. Caramão¹

¹Universidade Federal do Rio Grande do Sul,

²Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre

elina@ufrgs.br

Os produtos naturais são utilizados pela humanidade desde tempos imemoriais. A busca por alívio e cura de doenças através da ingestão de ervas e folhas talvez tenha sido uma das primeiras formas de utilização dos produtos naturais. De acordo com a OMS, mesmo nos dias de hoje, 65 a 80% da população mundial depende de plantas medicinais para suas necessidades primárias em saúde. O chá é uma bebida popular e de baixo custo, valorizada em todo o mundo. Sabe-se que a qualidade de um chá medicinal é principalmente determinada pelos compostos voláteis e não-voláteis. O gênero Piper pertence à família Piperaceae, apresentando cerca de 700 espécies. Os compostos voláteis das partes aéreas de várias espécies de Piper foram objeto de inúmeros estudos que mostram a predominância de monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos e fenilpropanoides, compostos estes típicos de óleos essenciais. Esses óleos essenciais (OE) demonstraram atividade antimicrobiana, antioxidante, anti-inflamatória, anti-espasmódica e relaxante, em animais e humanos. As espécies Piper regnellii, Piper amalago, Piper glabratum e Piper gaudichaudianum são chamadas popularmente de Pariparoba e suas folhas consumidas na forma de chá. O presente trabalho alia a capacidade analítica da cromatografia gasosa bidimensional abrangente (GC×GC) ao uso de índices de retenção e ferramentas adequadas de software para o estudo dos óleos essenciais das folhas das quatro espécies de Piper citadas. Cada óleo essencial foi extraído de 200 g de folhas frescas por hidrodestilação, utilizando-se aparelhagem de Clevenger (Farmacopeia Brasileira). Os resultados preliminares indicam que a composição química dos quatro OE apresentam diferenças significativas. Enquanto os OEs de P. glabratum e P. gaudichaudianum são os mais semelhantes em termos de compostos majoritários (E-nerolidol, E-cariofileno, α -humuleno e biciclogermacreno), sendo o E-nerolidol reconhecido pela atividade antioxidante, o OE de P. regnellii é rico em fenilpropanóides, entre os quais, o Anetole E, que possui atividade inseticida relatada. Já o OE de P. amalago apresenta α -selinene, E-cariofileno, cadineno e linalool como compostos majoritários. A GC×GC apresentou vantagens analíticas quando comparada a cromatografia monodimensional (GC), compostos que co-eluíram na GC, dentre os quais anetole E e acetato de isobornila, foram resolvidos pela técnica bidimensional. Além disso, a qualidade superior dos espectros de massas gerados pela GC×GC resultou na melhor caracterização dos óleos, principalmente dos compostos minoritários. Desta forma, a análise das diferentes espécies pode indicar um uso seletivo das mesmas para propósitos terapêuticos distintos, bem como alertar a população e os órgãos fiscalizadores competentes para o risco de utilização indiscriminada de espécies de Piper que contêm componentes que apresentam diferentes atividades biológicas.

Agradecimentos: CAPES, CNPq

CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE LIPPIA ORIGANOIDES H.B.K

Simone Teles, Franceli da Silva, Angélica Maria Lucchese, Lenaldo Muniz de Oliveira

*Centro de Ciências Agrárias Ambientais e Biológicas/Universidade Federal do Recôncavo da Bahia,
Campus Cruz das Almas/BA, Centro, Cep:44380-000*

franceli.silva@gmail.com

A *Lippia origanoides* (Verbenaceae) é uma espécie nativa do Brasil, conhecida popularmente como “alecrim-do-tabuleiro”. Tradicionalmente suas folhas e flores são utilizadas na medicina popular em forma de infusão no tratamento de dor de estômago, flatos e indigestão. O potencial medicinal encontrado nesta espécie deve-se principalmente aos componentes químicos presentes no óleo essencial. O objetivo deste trabalho foi identificar os compostos químicos do óleo essencial de *Lippia origanoides* cultivada em Feira de Santana, Bahia. O experimento foi conduzido no Horto Florestal da Universidade Estadual de Feira de Santana. Foram utilizadas estacas de plantas matrizes cultivadas na coleção de plantas aromáticas da referida unidade experimental. Após 60 dias em casa de vegetação, foram transplantadas para o campo no espaçamento de 1,0 m x 0,5 m. A colheita foi realizada aos 150 dias após o plantio das mudas em campo. Em seguida as folhas+inflorescências foram acondicionadas em sacos de papel e secas em estufa com circulação forçada de ar a 40°C até peso constante. Parte do material seco foi separado para determinação do teor de umidade. Foram utilizadas quatro amostras de 100,0g de folhas+inflorescência para extração do óleo essencial. O processo de obtenção do óleo foi conduzido durante 3 horas, utilizando o Aparelho Tipo Clevenger. A composição química foi determinada usando a cromatografia em fase gasosa (CG). Na análise por CG/DIC foi utilizado um Cromatógrafo Shimadzu® CG-2010 equipado com injetor automático AOC-20i, coluna ca-pilar Rtx-5 (30 m x 0.25 mm) e as análises por CG/EM foram realizadas em Cromatógrafo Shimadzu® CG-2010 acoplado a Espectrômetro de Massas CG/MS-QP 2010 Shimadzu®, com injetor automático AOC-20i, coluna capilar DB-5ms (30 m x 0.25 mm). Os espectros de massa foram comparados com dados de biblioteca Wiley e os índices de retenção foram calculados a partir da injeção de uma série de n- alcanos (C8 a C24). Os teores dos componentes foram calculados em área (%) a partir do sinal de um detector de ionização por chama. No presente trabalho foi possível verificar o teor de 4,3% do óleo essencial das folhas de *Lippia origanoides*. Foram identificadas 27 substâncias, sendo a majoritária o carvacrol, com 58,6%, seguido do p-cimeno, com 6,2%. Outros compostos de relativa expressão numérica foram o (E)-cariofileno e timol, com 4,0%. Os demais compostos apresentaram valores abaixo de 4,0%. Nas condições em que o experimento foi realizado, conclui-se que a *Lippia origanoides* é uma espécie rica em óleo essencial e o carvacrol, composto identificado em maior quantidade, confere a esta espécie características biotivas importantes, que podem ser aplicadas nos diferentes nas indústrias farmacêuticas, cosméticas e de alimentos.

Agradecimentos: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia-FAPESB.



CARACTERIZAÇÃO DO PERFIL AROMÁTICO DE VINHOS TROPICAIS ELABORADOS A PARTIR DE UVAS ARINTO E FERNÃO PIRES NO NORDESTE DO BRASIL

Veríssimo, C. M.¹; Pereira, G. E.²; Rezende, C. M.³

¹Centro de Tecnologia. Universidade Federal do Rio de Janeiro.

Av. Athos da Silveira Ramos, 149, Bloco A, Ilha do Fundão. CEP: 21941-909. Rio de Janeiro – RJ

²Embrapa Uva e Vinho/Semiárido. Rodovia BR 428, Km 152, Zona Rural. CEP 56302-970. Petrolina – PE

³Centro de Tecnologia. Universidade Federal do Rio de Janeiro. Av. Athos da Silveira Ramos, 149, Bloco A,

Ilha do Fundão. CEP: 21941-909. Rio de Janeiro – RJ

caioverissimo@iq.ufrj.br

O vinho é definido como a bebida resultante da fermentação alcoólica, total ou parcial, da uva fresca, esmagada ou não; com teor alcoólico mínimo de 7%. Tradicionalmente, as áreas cultivadas com videiras encontram-se em regiões de clima temperado, entre as latitudes de 30° N e 50° N, e 29° S e 45° S. Entretanto, devido à origem centro-euro-asiática da espécie *Vitis vinifera*, local de verões quentes e secos, um grande número de cultivares mostram-se adaptáveis a climas tropicais semiáridos, possibilitando o desenvolvimento da Vitivinicultura Tropical, acolhida entre os paralelos 30° N e 30° S. A composição química da uva tem significativa importância na qualidade do vinho e mais de 1000 compostos, de várias classes químicas – álcoois, terpenos, ésteres, aldeídos, cetonas, ácidos, lactonas, compostos sulfurados e nitrogenados –, já foram identificados. Tanto a concentração, quanto as substâncias que compõem os frutos são influenciadas por vários fatores, como a maturação, a cultivar, a época do ano, as práticas culturais e as condições climáticas. No vinho, outra variante a ser considerada é o protocolo de vinificação. A análise de composição aromática dos vinhos se deu através da técnica de Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas (CG-EM) no modo *Full-Scan*, para a identificação dos compostos, utilizando-se uma coluna capilar DB-WAX (60 m x 0,25 mm x 0,50 µm). Como meio de extração foi utilizada a Microextração em Fase Sólida em *Head Space* (SPME-HS), processo que apresenta como vantagens rapidez, simplicidade, não-necessidade da utilização de solventes orgânicos, possibilidade de automação e baixo custo. O perfil encontrado para os vinhos das duas castas foi idêntico, sendo diferenciado apenas pela abundância percentual relativa dos compostos. O vinho proveniente da variedade Arinto apresentou 20 compostos, divididos entre 11 ésteres, com 53,80% da abundância relativa; 5 álcoois, com 18,60% da abundância relativa; 3 ácidos carboxílicos, com 27,56% da abundância relativa; 1 monoterpene, com 0,04% da abundância relativa; e, com 23,98% da abundância relativa, o composto majoritário foi o octanoato de etila, o qual apresenta como principal característica o aroma frutado. O vinho proveniente da uva Fernão Pires apresentou 20 compostos, divididos entre 11 ésteres, com 43,93% da abundância relativa; 5 álcoois, com 17,71% da abundância relativa; 3 ácidos carboxílicos, com 38,27% da abundância relativa; e 1 monoterpene, com 0,09% da abundância relativa; e, com 28,90% da abundância relativa, o composto majoritário foi o ácido octanóico, o qual apresenta como principal característica o aroma láctico. Apesar da similaridade dos compostos, pode se observar, através dos percentuais de abundância relativa, uma diferença na composição aromática dos vinhos Arinto e Fernão Pires elaborados em condições tropicais do Nordeste brasileiro.

Agradecimentos: À Vinícola Santa Maria pelo fornecimento das uvas e à Embrapa Uva e Vinho/ Semiárido pela vinificação das amostras.

CARACTERIZAÇÃO DA COMPOSIÇÃO VOLÁTIL NO FRUTO AWAYMANTO (PHYSALIS PERUVIANA L) EMPREGANDO HS-SPME- CG

Ausberta J. C. Garciaa, Gerby Giovanna Rondán Sanabriaa, Emerson Bezerra Fontesa,
Suyare Araújo Ramalho, Narendra Naraina

*Laboratory of Chromatographic Analysis and of flavor, NUCTA,
Federal University of Sergipe, 49100-000 São Cristóvão SE, Brazil
ausbertaj@gmail.com*

Neste estudo foi investigado a caracterizado da composição de compostos voláteis da fruta Awaymanto (*physalis peruviana L*), para identificar os componentes responsáveis pelo aroma característico desta fruta nativa do Perú e com forte expansão de seu cultivo no Brasil, utilizou-se a técnica por microextração em fase sólida por headspace (HS-SPME) associada com a cromatografia gasosa de alta resolução acoplada a espectrômetro de massa (GC-MS). Para extração de voláteis do HS-SPME foi usada uma fibra de CAR/PDMS. As condições otimizadas para a adsorção dos compostos voláteis na fibra foram: 2 g polpa de polpa em 5ml solução salina ao 30 % NaCl, fixando a temperatura desta mistura a 40 °C durante 50 min. Logo a fibra foi colocados no injetor modo split (20:1), sendo estes voláteis desorbidos da fibra, eluidos no cromatograma em função de uma taxa de razão de temperatura. Foram detectados 97 compostos dentro deles 80 foram identificados. Entre os compostos predominantes foram: Butyl butanoate, Butanoic acid, 2-methylbutyl Ester, Terpinolene, Methyl octanoate, Ethyl octanoate, Methyl decanoate, Ethyl decanoate.

Keywords: awaymanto, *Physalis Peruviana L*, Compostos voláteis, Micro-extração em fase sólida (HS-SPME), Cromatografia gasosa-espectrometria de massa (GC-MS).

Agradecimentos: CAPES.



EFEITO DAS ETAPAS DE VINIFICAÇÃO NO PERFIL DE COMPOSTOS VOLÁTEIS DO ESPUMANTE MOSCATEL

Rafael Dutra Soares, Juliane Elisa Welke, Karine Primieri Nicolli, Vitor Manfroi, Cláudia Alcaraz Zini

Instituto de Química e Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, UFRGS,

Avenida Bento Gonçalves, 9500 Porto Alegre, RS

cazini@iq.ufrgs.br

O aroma e a qualidade dos vinhos estão relacionados ao seu perfil volátil. As características frutadas e florais dos espumantes Moscatel são responsáveis pelo aroma atrativo e único desta bebida. Terpenos, ésteres e álcoois estão entre os compostos voláteis mais importantes para o aroma do espumante Moscatel. A vinificação resulta em transformações na composição volátil dos vinhos e o objetivo deste trabalho é avaliar o efeito das etapas de vinificação nos níveis de alguns compostos voláteis importantes para o aroma de espumante Moscatel, analisado-os através da microextração em fase sólida no modo headspace (HS-SPME) e da cromatografia gasosa monodimensional acoplada a espectrometria de massas (1D-GC/MS). Além disso, a cromatografia gasosa bidimensional abrangente acoplada a espectrometria de massas por tempo de voo (GC×GC/TOFMS) foi avaliada em relação ao seu potencial para a caracterização do perfil volátil dos espumantes. A diminuição das áreas cromatográficas de alguns monoterpenos (limoneno, 4-terpineol, terpinoleno, citrionelol, α -terpineol, linalool, hotrienol, e óxido nerol) foi observada durante as etapas de elaboração dos espumantes. Estes terpenos contribuem positivamente para o aroma do vinho, atribuindo-se a estes principalmente notas florais. Desta maneira, a diminuição da concentração destes compostos pode ser prejudicial para o aroma dos espumantes. Entretanto, alguns destes compostos originam derivados terpênicos durante a vinificação, o que explica o aumento da concentração dos acetatos de citrionelila, nerila e geranila que também contribuem para o aroma floral. Também, a redução da área cromatográfica do hexanol durante a elaboração do espumante Moscatel pode ter ocorrido devido à formação do respectivo éster correspondente (hexanoato de etila). Esta transformação tem influência positiva no aroma do vinho, pois ocorre a diminuição do aroma herbáceo relacionado ao álcool e o aumento do aroma frutado que é característico do éster. As áreas cromatográficas dos ésteres hexanoato de etila, octanoato de etila, decanoato de etila e acetato de hexila aumentou durante a vinificação, o que pode indicar um aumento das características frutadas desta bebida. A GC×GC mostrou-se promissora para a caracterização do perfil volátil de espumantes Moscatel, pois 32 dos 173 compostos tentativamente identificados co-eluíram com outros analitos. A importância da separação e identificação apropriadas dos compostos voláteis de espumante Moscatel pode ser verificada através da resolução do acetato de citrionelila (aroma floral) e 1,2-dihidro-1,1,6-trimetil-naftaleno (aroma “de querosene”). Estes compostos apresentam contribuição antagônica para o aroma e foram separados apenas na segunda dimensão da GC×GC. Trabalhos futuros serão conduzidos para avaliar os compostos que co-eluíram durante as etapas da vinificação.

Agradecimentos: CNPq, FAPERGS e CAPES pelo apoio financeiro e bolsas de estudo.

DIFERENCIAÇÃO ENTRE ESPUMANTES MOSCATÉIS PROVENIENTES DE DUAS VARIEDADES DE UVA MOSCATO

Karine Primieri Nicolli, Juliane Elisa Welke, Vitor Manfroi, Claudia Alcaraz Zini

*Instituto de Química, Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul,
claudialcaraz@gmail.com, karinenicolli@yahoo.com.br*

O vinho espumante Moscatel brasileiro, conhecido por seu aroma típico, tem chamado a atenção internacional por causa de sua alta qualidade. No ano passado, os espumantes Moscatéis brasileiros ganharam 13 medalhas de ouro ao participar de 14 competições internacionais. O objetivo deste estudo é a caracterização de compostos voláteis de espumantes Moscatéis de duas variedades de uva, usando microextração em fase sólida no modo headspace (HS-SPME) e cromatografia gasosa bidimensional abrangente (GC×GC) com detector de espectrometria de massa (TOFMS). As condições de extração para os dez espumantes (três espumantes brasileiros feitos com uvas Moscato Giallo, cinco espumantes brasileiros feitos com uvas Moscato Bianco e dois espumantes da região do Piemonte, Itália) foram as seguintes: dois mL de amostra em um frasco de vidro de 10 mL, 30% de NaCl (m/v), 30 minutos de extração a 40°C. O headspace foi amostrado utilizando-se uma fibra PDMS/DVB e as análises foram realizadas em um GC×GC/TOFMS Pegasus IV da LECO. O software ChromaTOF foi usado para o controle de aquisição, processamento de dados e cálculos de razão de Fisher, enquanto o software Statistica foi empregado para análise de componentes principais (PCA). O conjunto de colunas utilizado foi DB-5 (60m × 0,25mm × 0,25µm) e DB-17ms (1,70m × 0,18mm × 0,18µm). Os compostos das amostras foram identificados por comparação de seus espectros de massa e dados de retenção com os mesmos dados de compostos padrão. Quando o composto padrão não estava disponível, a identificação foi realizada tentativamente, comparando-se o índice de retenção e espectro de massa do mesmo com dados reportados na literatura. A determinação da razão de Fisher foi útil para designação dos analitos responsáveis pelas principais diferenças entre os vinhos feitos com uvas Moscato Bianco e aqueles feitos com Moscato Giallo, os quais foram os seguintes: linalol, hotrienol, mentol, terpinoleno, acetato de linalol, cis-3,7-dimetil-2,6-octadien-1-ol, geraniol, terpeno 1, terpeno 2, nerol e geraniol etil éter. Foi possível verificar uma distinção entre amostras de Moscato Giallo e os demais espumantes. O perfil volátil dos dois espumantes italianos, produzidos com uvas Moscato Bianco, foi semelhante ao dos espumantes brasileiros produzidos com Moscato Bianco. Além disso, o uso da GC×GC/TOFMS permitiu a detecção de alguns compostos presentes em menor abundância, como cis-3,7-dimetil-2,6-octadien-1-ol. Foram observadas co-eluições na primeira dimensão, sendo que algumas delas foram resolvidas na segunda dimensão, como é o caso do mentol (menta) e epóxi-linalol (floral). A GC×GC/TOFMS demonstrou seu potencial para diferenciação de vinhos provenientes de duas diferentes variedades de uvas Moscato e este potencial aponta para estudos interessantes não só ponto de vista acadêmico, mas também no que tange à aplicação prática em controle de qualidade de vinhos.

Agradecimentos: CNPq, CAPES e FAPERGS pelo suporte financeiro e bolsas e a ABE e EMBRAPA pelas amostras. A LECO pela atualização do software.



AVALIAÇÃO QUANTITATIVA DOS COMPOSTOS VOLÁTEIS DE VINHOS ANALISADOS ATRAVÉS DA GC×GC

Juliane Elisa Welke, Mauro Zanus, Marcelo Lazzarotto, Francieli Martins Mayer, Claudia Alcaraz Zini

Instituto de Química e Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, UFRGS, Porto Alegre, RS;

Embrapa Uva e Vinho, Bento Gonçalves, RS

cazini@iq.ufrgs.br

Os compostos voláteis estão relacionados ao aroma e à qualidade dos vinhos. Entretanto, nem todos os voláteis contribuem para as características aromáticas desta bebida. A elucidação do perfil volátil aliada à avaliação quantitativa podem ser ferramentas importantes para identificar quais são os principais compostos responsáveis pela qualidade sensorial dos vinhos. A cromatografia gasosa bidimensional abrangente acoplada a espectrometria de massas por tempo de voo (GC×GC/TOFMS) é uma técnica que tem apresentado desempenho superior em relação à GC monodimensional (1D-GC). O objetivo deste trabalho foi quantificar os compostos voláteis de vinhos Chardonnay analisados através da GC×GC/TOFMS. A microextração em fase sólida no modo heaspace (HS-SPME) foi utilizada para a extração dos compostos voláteis de acordo com as seguintes condições: uso do revestimento polimérico DVB/CAR/PDMS, 1 mL de vinho, 30% de NaCl, durante 45 min a 45°C. O uso da GC×GC possibilitou a identificação tentativa de 243 compostos, o que prova a capacidade superior desta técnica analítica, considerado que o número de compostos separados pela 1D-GC é de aproximadamente 60 compostos. Além disso, 42 compostos co-eluíram na primeira dimensão e 34 destes foram separados na segunda dimensão. Outros oito compostos foram identificados apenas com o uso da deconvolução espectral, o que indica que a aplicação da 1D-GC poderia resultar na identificação incorreta destes compostos coeluídos. Os ésteres majoritários foram o lactato de etila (345 mg/L), octanoato de etila (45 mg/L) e 2-hidroxi-butanoato de etila (24 mg/L). Estes compostos podem contribuir para o aroma frutado. O álcool encontrado em maior concentração foi o 2-feniletanol (356 mg/L) que está relacionado ao aroma floral. O ácido octanóico (160 mg/L) e o ácido isobutírico (8 mg/L) foram os ácidos predominantes e podem contribuir com o aroma descrito como rançoso e “de queijo”, respectivamente. Entre os aldeídos destaca-se a presença do benzaldeído (0,76 mg/L, aroma de amêndoas), seguido do acetaldeído (0,07 mg/L, aroma pungente). As cetonas majoritárias foram a acetoina (180 mg/L) e a 2,3-butadiona (0,18 mg/L), sendo que ambas apresentam aroma amanteigado. O farnesol (2,8 mg/L) e o nerolidol (1,6 mg/L) foram os terpenos predominantes e destacam-se por contribuir para o aroma floral. Além disso, alguns compostos minoritários de outras classes químicas foram tentativamente identificados: 2-tiofenocarboxaldeído (0,03 mg/L), 2-pirrolidinona (0,01 mg/L) e 4-metilguaiacol (0,008 mg/L). Entre estes compostos destaca-se a co-eluição do 2-hidroxi-butanoato de etila e (Z)-3-hexen-1-ol, que apresentam contribuições antagônicas para o aroma dos vinhos. O odor deste éster é descrito como floral e o do ácido como rançoso. Estes compostos possivelmente não seriam satisfatoriamente identificados e quantificados, se a 1D-GC fosse utilizada com a mesma fase da 1ª dimensão.

Agradecimentos: CNPq, FAPERGS e CAPES pelo apoio financeiro e bolsas de estudo.

VOLÁTEIS CARACTERÍSTICOS DA SEGUNDA FERMENTAÇÃO DE ESPUMANTES ANALISADOS ATRAVÉS DA GC×GC

Juliane Elisa Welke, Mauro Zanus, Marcelo Lazzarotto, Claudia Alcaraz Zini

Instituto de Química e Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, UFRGS, Porto Alegre, RS;

Embrapa Uva e Vinho, Bento Gonçalves, RS

cazini@iq.ufrgs.br

O espumante produzido pelo método tradicional é preparado através de duas fermentações. Este procedimento é similar ao método Champenoise usado para produzir o Champagne. A primeira fermentação do mosto de uvas origina o vinho base. Este vinho é destinado à segunda fermentação que ocorre na garrafa e resulta no aumento do conteúdo de álcool e pressão atmosférica. Além disso, a segunda fermentação pode resultar em transformações no perfil de compostos voláteis deste tipo de bebida. O objetivo deste estudo é verificar as mudanças que ocorrem no perfil volátil após a segunda fermentação usando a cromatografia gasosa bidimensional abrangente acoplada a espectrometria de massas por tempo de voo (GC×GC/TOFMS). Foram tentativamente identificados 241 compostos voláteis. A razão de Fisher e a análise dos componentes principais (PCA) foram as ferramentas estatísticas empregadas para verificar as principais modificações que ocorrem no perfil volátil de vinhos base e espumantes. Os 119 compostos selecionados pela razão de Fisher foram utilizados na PCA que selecionou os 78 voláteis mais importantes para as características deste tipo de bebida. Os principais representantes de cada classe química que mais contribuem para as diferenças entre vinho base e espumante foram: C13-norisoprenóides (TDN, vitispirano e hidróxi-propanoato de etila e pentanoato de etila), álcoois (4-butóxi-butanol, 1-propanol e metionol), aldeídos (3-fenil-2-propenal, nonanal e undecanal), ácidos (ácido acético, ácido 2-etil-hexanoico e ácido butanoico), cetonas (acetoína e diacetil) e fenóis (4-vinilguaiacol e 4-etilfenol). Cabe salientar que entre estes compostos, os C13-norisoprenóides foram os únicos compostos detectados apenas após a segunda fermentação. Os demais compostos foram detectados tanto no vinho base quanto no espumante e as modificações observadas referem-se ao aumento ou diminuição da área cromatográfica dos mesmos durante a elaboração de espumante. A importância do uso da GC×GC/TOFMS para a caracterização do perfil volátil de espumantes pode ser verificada através da separação do 2-butenodiolato de dietila (aroma frutado) que co-eluiu na primeira dimensão e co-eluiu parcialmente na segunda dimensão com a acetofenona (aroma pungente). Outro exemplo interessante de compostos que foram identificados apenas com o uso da deconvolução espectral refere-se a co-eluição entre o isometanol (aroma de hortelã) e o metil succinato de etila (aroma frutado). Além disso, a resolução superior da GC×GC foi demonstrada através da resolução de outros 16 compostos que podem ser importantes para o aroma e apresentaram-se co-eluídos na primeira dimensão. O monitoramento dos compostos apontados como os principais responsáveis pelas diferenças no perfil volátil do vinho base e espumante pode ser útil no controle de qualidade desta bebida e pode apontar caminhos para melhoria do processo de vinificação.

Agradecimentos: CNPq, FAPERGS e CAPES pelo apoio financeiro e bolsas de estudo.



ANÁLISE DA COMPOSIÇÃO VOLÁTIL DE FRUTAS DA AMAZÔNIA PELA TÉCNICA SPME

Cavalcanti, R. G.¹; Silva, R. F.^{1,2}; Tsukui, A.¹; Rezende, C. M.¹

¹Instituto de Química - UFRJ;

²Instituto de Pesquisas de Produtos Naturais - UFRJ

claudia.rezendeufrj@gmail.com

O Brasil é conhecido mundialmente por sua rica biodiversidade, entre os quais a Amazônia, que fornece um grande número de frutas não tradicionais, tais como o cupuaçu, o uxi e o biribá. Apesar do aumento do consumo dessas frutas no país, poucos estudos foram desenvolvidos até o presente momento, principalmente aqueles relacionados a sua composição volátil. O conhecimento dos constituintes voláteis é importante para a indústria alimentícia e está relacionado diretamente ao sabor e à qualidade da fruta. O objetivo desse estudo, portanto, é analisar a composição da fração volátil de frutas nativas não tradicionais da Amazônia, por meio da técnica de microextração em fase sólida (SPME). Inicialmente, as frutas analisadas foram o cupuaçu (*Theobroma grandiflorum* Schum.), o uxi (*Endopleura uchi* Cuatrec.) e o biribá (*Rollinia mucosa* (Jacq.) Baill). As frutas in natura foram adquiridas no Mercado Ver-o-Peso, em Belém (PA). Para a extração dos voláteis por SPME, uma fibra de 100 µm PDMS foi adquirida da empresa Supelco Inc. (Bellefonte, PA) e condicionada conforme especificado pelo fabricante. As amostras consistiram de 1,0g de polpa homogeneizada em um frasco lacrado. O tempo de estabilização das amostras foi de 20 min. A extração dos voláteis do headspace foi realizada em 20 min. A temperatura de estabilização da amostra e extração dos voláteis foi de 40°C. O tempo de dessorção da fibra no injetor foi de 3 minutos em modo sem divisão de fluxo, com temperatura de 250 °C. Em seguida, foi realizada a análise por cromatografia em fase gasosa (Agilent 6890N) com detector de espectrometria de massas (Agilent 5973N). A separação dos compostos foi realizada em coluna capilar de sílica fundida com fase DB-5 (30m x 0,25mm x 0,25µm). Hélio foi utilizado como gás de arraste (1mL/minuto). O forno teve como temperatura inicial 40°C (por 3min) com uma taxa de aquecimento de 3°C /min, chegando a uma temperatura máxima de 240°C. A identificação das substâncias foi feita a partir da comparação entre seu espectro experimental com o da biblioteca Wiley Registry of Mass Spectral Data (1994), correlacionando com o índice de retenção linear calculado e da literatura. O índice de retenção linear foi calculado após injeção de uma série homóloga de n-alcenos (C7-C26) nas mesmas condições cromatográficas anteriormente citadas. A análise das frutas foi possível com a técnica SPME, mostrando-se reprodutível. As frações voláteis das frutas cupuaçu e uxi revelaram composição majoritária similar, ambas ricas em ésteres, entre os quais n-hexanoato de metila, benzoato de metila e butanoato de butila. Em contrapartida, a fração volátil da fruta biribá mostrou-se rica majoritariamente em terpenos, sendo para-cimeno, 2-delta-careno e o beta-sesquifelandreno os componentes principais.

Agradecimentos: IPPN, CAPES, CNPq e Faperj.

CARACTERIZAÇÃO PRELIMINAR DO PERFIL VOLÁTIL DE VINHOS “SYRAH” DA REGIÃO DO VALE DO SÃO FRANCISCO

Janaina Barbará, Aline Biasoto, Karine Nicolli, L. Natividade, Elina Caramão,
Francieli Mayer, Juliane Welke, Cláudia Zini

*Instituto de Química e Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, UFRGS, Porto Alegre, RS;
Embrapa Semiárido, Petrolina, PE
jabbarbara@gmail.com; cazini@iq.ufrgs.br*

A região do Vale do São Francisco tem se mostrado promissora para o cultivo de uvas Syrah devido ao seu clima seco. Esta região apresenta clima tropical semiárido, com temperatura média anual de 26°C, altos índices de insolação e água abundante para a irrigação, o que torna possível a produção de duas safras anuais. Vinhos australianos produzidos com esta cultivar são reconhecidos mundialmente por sua qualidade. A introdução de uvas Syrah no Brasil é recente, entretanto, vinhos desta cultivar conquistaram o 1º lugar na categoria tinto nacional na degustação “Top Ten” da Expovinis em 2012, o que demonstra a qualidade destes vinhos. Apesar do reconhecimento da qualidade destes vinhos, o conhecimento em relação ao perfil volátil de vinhos elaborados com uvas Syrah ainda é incipiente. A composição volátil está diretamente relacionada à qualidade dos vinhos, pois são os compostos voláteis que definem o aroma desta bebida. O objetivo deste trabalho é avaliar o perfil volátil de vinhos Syrah elaborados na região do Vale do São Francisco. A microextração em fase sólida no modo headspace foi utilizada para a extração dos compostos voláteis utilizando as seguintes condições: 1 mL de amostra, 30% de NaCl, 45 minutos de extração a 55°C. Os compostos do headspace do vinho Syrah foram identificados tentativamente por meio de comparação de seus índices de retenção cromatográfica e espectros de massas, com aqueles registrados na literatura. A determinação dos compostos voláteis foi feita através da cromatografia gasosa acoplada ao detector de espectrometria de massas. Trinta compostos foram tentativamente identificados, sendo que álcoois foram a classe predominante (40,0%), seguidos de ésteres (23,3%), terpenos (20,0%), ácidos (13,3%) e sulfurados (3,3%). Os compostos majoritários foram o 3-metil butanol e 2-feniletanol que possuem aroma descrito como solvente e floral, respectivamente. Entre os demais compostos tentativamente identificados destaca-se a presença de outros voláteis com conhecida contribuição positiva para o aroma, como por exemplo, os ésteres de etila. O hexanoato, octanoato, decanoato e dodecanoato de etila estão relacionados ao aroma frutado. Além disso, terpenos, incluindo o citrionelol e geraniol também contribuem positivamente para o aroma dos vinhos, pois notas descritas como doces e florais são atribuídas a estes compostos. Cabe ressaltar a presença de um composto sulfurado, o benzotiazol, que é responsável por gerar notas importantes de aroma, descritas como torrado e assado. A contribuição negativa para a qualidade dos vinhos Syrah pode estar relacionada a presença de alguns ácidos (acético, butanóico, hexanóico e octanóico).

Agradecimentos: Ao CNPq, CAPES, FINEP, FAPERGS pelo suporte financeiro relativo a bolsas de estudo e a recursos de projetos de pesquisa.



EXTRAÇÃO E IDENTIFICAÇÃO DE FITOALEXINAS EM LARANJEIRA PÊRA COM CANCRO CÍTRICO POR HS-SPME/GC-MS

Edenilson dos S. Niculau, Maria Fátima das G. F. da Silva, Leonardo Toffano,
Marcos A. Machado, João B. Fernandes

*Laboratório de Produtos Naturais/DQ, Universidade Federal de São Carlos,
13565-905, São Carlos – SP, Brasil
edenilsonnicolau@hotmail.com*

O cancro cítrico (C. C), causado pela bactéria *Xanthomonas citri* subsp. *citri* (Xac), é uma doença que provoca sérios problemas à citricultura mundial, principalmente à cultura da laranja. Quando as plantas estão associadas a micro-organismos (bactérias, fungos ou vírus), elas frequentemente produzem novos compostos (fitoalexinas) para tentar se defender dos ataques tóxicos dos mesmos. Entre algumas fitoalexinas relatadas na literatura, destacam-se: salicilato de metila e derivados, ácido jasmônico e ácido azeláico. Uma forma de identificar a presença de fitoalexinas é por meio da técnica Microextração em Fase Sólida no modo “headspace” (HS-SPME) associada à cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS). HS-SPME é uma das principais técnicas usadas para extração de voláteis, pois não utilizam solventes e altas temperaturas, reduzindo a degradação de algumas substâncias comparado à hidrodestilação. Dessa forma, o presente trabalho mostra um estudo de identificação de fitoalexinas em Laranjeira “Pera” (*Citrus sinensis*) sintomática do cancro cítrico por HS-SPME/GC-MS utilizando nitrogênio líquido (N₂) no preparo de amostra. Para isso, foram recortados 5 pedaços (0,8 x 0,4 cm) de cada folha sadia (SA) e sintomática (IFCSIN) do C. C. Posteriormente os 5 pedados de cada tipo de folha foram triturados em N₂ e inseridos em vial de 2 mL. Em seguida, os voláteis emitidos pelas folhas sadias e sintomáticas foram extraídos por HS-SPME por 30 min a 25 °C, sem agitação. Imediatamente, a fibra PDMS/DVD (com característica bipolar) foi exposta na porta do injetor do GC-MS para dessorção e análise dos voláteis em quintuplicata. As amostras foram analisadas no modo splitless com tempo de dessorção de 30 segundos em GC-17A, hifenizado a um espectrômetro de massas QP5000, operando com coluna capilar DB-5MS, L = 30 m, DI = 0,25 mm e filme = 0,25 µm, no modo scan. Os componentes voláteis foram identificados através da comparação de seu espectro de massas com espectros existentes na literatura ADAMS, com espectros do banco de dados do equipamento (WILEY8, NIST05, NIST21 e NIST107), do Software NIST MS Search 2.0 e pela comparação com índices de retenção. O percentual de cada constituinte foi estimado pela normalização da área (%). Nas plantas IFCSIN, foram identificados várias fitoalexinas derivadas do benzeno (benzaldeído, 1,12%, salicilato de metila, 0,04, fenil metanol, 7,38%, benzoato de metila, 2,06%, acetato de benzila, 2,05%, benzoato de etila, 7,56%, acetato de 1-fenil etila, 0,04%, e acetato de 2-fenil etila, 0,50%), muitas destas majoritárias na planta e todas não foram detectadas nas plantas sadias. Pelo nosso conhecimento, compostos dessa classe nunca havia sido identificado em L. Pêra, sendo um passo importante para o controle do cancro cítrico. Estudos mostram que em outras plantas, substâncias com estruturas parecidas também fazem parte do mecanismo de defesa.

Agradecimentos: FAPESP, CNPq e CAPES pelo suporte financeiro.

ANÁLISE DO ÓLEO ESSENCIAL DO ANIS ESTRELADO POR CG-CG/ MS E POR CG-MS/MS

Keila dos Santos Cople Lima, Marcelo Carneiro dos Santos, Antonio Luís dos Santos Lima

Instituto Militar de Engenharia - Praça General Tibúrcio, 80, Rio de Janeiro - RJ, Brasil

keila@ime.eb.br

O anis estrelado é uma especiaria originária da China cujo sabor se assemelha ao do anis ou erva-doce (*Pimpinella anisum*), e é obtida a partir do pericarpo em forma de estrela de uma árvore perene nativa de médio porte do nordeste do Vietnã e sudoeste da China (*Illicium verum*). Além de seu uso na culinária, na América Latina os seus chás são usados como forma de tratamento para cólica infantil, enquanto na Europa ele é usado para aliviar sintomas de estresse. O anis estrelado é frequentemente usado como um substituto para o anis por causa de seu alto teor de anetol, o mesmo ingrediente que dá ao anis seu sabor característico. Seu óleo essencial possui uma ampla variedade de aplicações comerciais na produção de perfumes, cosméticos, sabonetes, aromatizantes de alimentos e bebidas. Além disso, possui uma forte atividade antimicrobiana e antioxidante, devido à elevada percentagem de trans-anetol, que tem também efeito relaxante muscular. Para determinar com precisão sua composição, foi realizada a extração do óleo por hidrodestilação em aparelho do tipo Clevenger modificado, por 3 horas. Em seguida, as amostras foram submetidas a duas metodologias de análise distintas. Na primeira delas foi utilizado um sistema constituído de dois cromatógrafos GC-2010 (definidos como GC 1 e GC 2) acoplados a um espectrômetro de massas quadrupolo MS-QP2010. O dispositivo de transferência do MDGC, localizado no GC 1, é conectado a uma avançada unidade de controle de pressão (APC) que fornece gás (He) a pressão constante. No primeiro GC foi utilizada uma coluna Solgel-wax 30m x 0,25 mm x 0,25 µm (SGE[®]), e no segundo uma coluna BP5 30m x 0,25mm x 0,25µm (SGE[®]). Na segunda metodologia foi empregado um cromatógrafo Thermo Scientific Trace 1300 GC acoplado a um espectrômetro de massas triplo quadrupolo TSQ 8000. Foi utilizada uma coluna TG-CEQ 15m x 0,25 mm x 0,25 µm, cuja fase estacionária é composta por 5% difenil e 95% dimetilpolissiloxano. As condições cromatográficas empregadas foram: aquecimento linear de 40 a 250 °C, com uma taxa de 10 °C / min, split 1:10 e fluxo de 1 mL / min. Os espectros de massa foram obtidos no modo positivo de aquisição, 70 eV, intervalo de escaneamento completo 40-400 m/z. Os dados foram comparados com os espectros de referência da NIST 11 Mass Spectral Library (v. 2.011). O emprego de duas metodologias distintas possibilitou maior precisão na determinação dos componentes majoritários do óleo essencial, evidenciando também as diferenças de sensibilidade dos dois equipamentos.

Agradecimentos: Exército Brasileiro e CAPES.



ANÁLISE DO ÓLEO ESSENCIAL DA NOZ MOSCADA POR CROMATOGRAFIA GASOSA BIDIMENSIONAL E ESPECTROMETRIA DE MASSAS COM DETECTOR TRIPLO QUADRUPOLO

Antonio Luís dos Santos Lima, Marcelo Carneiro dos Santos, Keila dos Santos Cople Lima

Instituto Militar de Engenharia - Praça General Tibúrcio, 80, Rio de Janeiro - RJ, Brasil
santoslima@ime.eb.br

Obtida do fruto da moscadeira (*Myristica fragrans*), uma planta da família das *Myristicaceae*, a noz moscada é uma especiaria proveniente da Indonésia, utilizada frequentemente como tempero e conservante. Em algumas culturas é também utilizada para fins medicinais, devido às suas propriedades abortivas e terapêuticas. Sua composição química é bastante variável, de acordo com a região de cultivo. Em seus componentes são normalmente encontrados aproximadamente 80% de monoterpenos, 5% de álcool monoterpeno e 5% de aromáticos e outros componentes em menores quantidades. Entre estes encontram-se o isosafrol ($C_{10}H_{10}O_2$), a elemicina ($C_{12}H_{16}O_3$) e a miristicina ($C_{11}H_{12}O_3$), substâncias consideradas precursoras de narcóticos alucinógenos como o ecstasy, e que são tóxicas se ingeridas em grandes quantidades. Das utilidades comprovadas de seu óleo essencial destacam-se a atividade antibacteriana e antifúngica, além de considerável potencial antinociceptivo. Neste estudo foi feita uma comparação entre CG-CG/MS e CG-MS/MS como métodos de análise deste óleo essencial, a partir de amostras submetidas a diferentes doses de radiação gama. O processo de irradiação tem comprovada capacidade de alteração da composição do óleo, e a utilização de dois métodos com características e capacidades distintas de sensibilidade e precisão possibilitou verificar em detalhes as sutis modificações provocadas. Após a extração do óleo por hidrodestilação em aparelho do tipo Clevenger modificado, por 3 horas, cada uma das amostras (uma controle e outras três irradiadas com 1, 3 e 5 kGy, respectivamente) foi submetida às duas metodologias de análise distintas. Na primeira delas foi utilizado um sistema constituído de dois cromatógrafos GC-2010 acoplados a um espectrômetro de massas quadrupolo MS-QP2010. No primeiro GC foi utilizada uma coluna Solgel-wax 30m x 0,25 mm x 0,25 μ m, e no segundo uma coluna BP5 30m x 0,25mm x 0,25 μ m. Os espectros de massa foram obtidos por impacto de elétrons, com energia de ionização equivalente a 70eV, nas seguintes condições: injetor a 260°C, coluna 1 a 60°C, coluna 2 a 60°C, modo de injeção split 5:1, programação de temperatura iniciando a 60°C por 5 minutos, seguidos de uma rampa linear até 280°C (taxa de 10°C/ min) nos dois cromatógrafos, interface a 240°C, intervalo de escaneamento de 40-400 m/z. Na segunda metodologia foi empregado um cromatógrafo Thermo Scientific Trace 1300 GC acoplado a um espectrômetro de massas triplo quadrupolo TSQ 8000. Foi utilizada uma coluna TG-CEQ 15m x 0,25 mm x 0,25 μ m, cuja fase estacionária é composta por 5% difenil e 95% dimetilpolissiloxano. A condição adotada para as análises cromatográficas neste método foi aquecimento linear de 40 a 250 °C com uma taxa de 10 °C / min, split 1:10 e fluxo de 1 mL / min. Os espectros de massa foram obtidos no modo positivo de aquisição, 70 eV, intervalo de escaneamento completo 40-400 m/z. Houve variações na composição dos óleos essenciais, atribuídas à incidência dos raios gama. A utilização dos dois métodos possibilitou avaliar com precisão estas alterações, concluindo quanto aos efeitos da radiação, quanto aos componentes majoritários e quanto à eficácia das metodologias.

Agradecimentos: Exército Brasileiro e CAPES.

COMPARAÇÃO ENTRE CG-CG/MS E CG-MS/MS COMO MÉTODOS DE ANÁLISE DO ÓLEO ESSENCIAL DA PIMENTA DO REINO

Marcelo Carneiro dos Santos, Keila dos Santos Cople Lima, Antonio Luís dos Santos Lima

Instituto Militar de Engenharia - Praça General Tibúrcio, 80, Rio de Janeiro - RJ, Brasil
marcelocarneiro@ime.eb.br

A pimenta-do-reino (*Piper nigrum L.*) é uma planta do tipo trepadeira originária da Índia, que atinge até 4 metros de altura. Possui folhas de coloração verde clara, com formato oval/arredondado. É considerada uma das mais importantes especiarias comercializadas mundialmente e é usada em larga escala como condimento, em indústrias de carnes e em conservas. O Brasil é atualmente o segundo maior produtor mundial, com uma produção estimada de cerca de 50 mil toneladas por ano. O óleo essencial da pimenta-do-reino é um líquido marrom-esverdeado, que contém basicamente monoterpenos, sesquiterpenos e compostos oxigenados. Apresenta atividade antiinflamatória e estimulante da biossíntese de serotonina no sistema nervoso central. Possui também destacado potencial inseticida. O presente estudo realizou a análise deste óleo através de duas metodologias, CG-CG/MS e CG-MS/MS. A extração do óleo foi feita por hidrodestilação em aparelho do tipo Clevenger modificado, por 4 horas. Para a primeira análise foi utilizada cromatografia gasosa bidimensional, em um sistema constituído de dois cromatógrafos GC-2010 acoplados a um espectrômetro de massas quadrupolo MS-QP2010. No primeiro GC foi utilizada uma coluna Solgel-wax 30m x 0,25 mm x 0,25 µm, e no segundo uma coluna BP5 30m x 0,25mm x 0,25µm. Os espectros de massa foram obtidos por impacto de elétrons, com energia de ionização equivalente a 70eV, com as seguintes condições: injetor a 230°C, modo de injeção split 10:1, programação de temperatura (nas duas colunas) iniciando a 40°C por 5 minutos, seguidos de uma rampa linear até 250°C na primeira coluna e 280°C (taxa de 10°C/ min) na segunda. A temperatura da interface foi de 250°C, e intervalo de escaneamento de 40-400 m/z. Na segunda metodologia foi empregado um cromatógrafo Thermo Scientific Trace 1300 GC acoplado a um espectrômetro de massas triplo quadrupolo TSQ 8000. Neste foi utilizada uma coluna TG-CEQ 15m x 0,25 mm x 0,25 µm, com fase estacionária composta por 5% difenil e 95% dimetilpolissiloxano. A condição adotada para as análises cromatográficas neste método foi aquecimento linear de 40 a 250 °C com uma taxa de 10 °C / min, split 1:10 e fluxo de 1 mL / min. Os espectros de massa foram obtidos no modo positivo de aquisição, 70 eV, intervalo de escaneamento de 40-400 m/z. As análises realizadas permitiram verificar a composição do referido óleo, avaliando a eficiência das duas metodologias e comparando os dados obtidos com os constantes na literatura. As cinco substâncias majoritárias encontradas nos dois métodos foram limoneno, sabineno, β-cariofileno, β-pineno e α-pineno, diferindo apenas nas proporções.

Agradecimentos: Exército Brasileiro e CAPES.



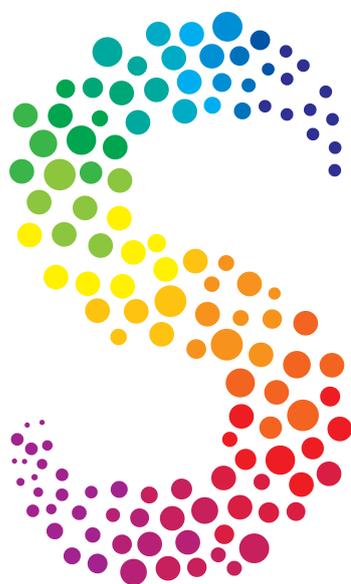
AVALIAÇÃO QUANTITATIVA DOS COMPOSTOS VOLÁTEIS DE VINHOS ANALISADOS ATRAVÉS DA GC×GC

Juliane Elisa Welke, Mauro Zanus, Marcelo Lazzarotto,
Francieli Martins Mayer, Claudia Alcaraz Zini

*Instituto de Química e Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, UFRGS,
Porto Alegre, RS; Embrapa Uva e Vinho, Bento Gonçalves, RS
cazini@iq.ufrgs.br*

Os compostos voláteis estão relacionados ao aroma e à qualidade dos vinhos. Entretanto, nem todos os voláteis contribuem para as características aromáticas desta bebida. A elucidação do perfil volátil aliada à avaliação quantitativa podem ser ferramentas importantes para identificar quais são os principais compostos responsáveis pela qualidade sensorial dos vinhos. A cromatografia gasosa bidimensional abrangente acoplada a espectrometria de massas por tempo de voo (GC×GC/TOFMS) é uma técnica que tem apresentado desempenho superior em relação à GC monodimensional (1D-GC). O objetivo deste trabalho foi quantificar os compostos voláteis de vinhos Chardonnay analisados através da GC×GC/TOFMS. A microextração em fase sólida no modo heaspace (HS-SPME) foi utilizada para a extração dos compostos voláteis de acordo com as seguintes condições: uso do revestimento polimérico DVB/CAR/PDMS, 1 mL de vinho, 30% de NaCl, durante 45 min a 45°C. O uso da GC×GC possibilitou a identificação tentativa de 243 compostos, o que prova a capacidade superior desta técnica analítica, considerado que o número de compostos separados pela 1D-GC é de aproximadamente 60 compostos. Além disso, 42 compostos co-eluíram na primeira dimensão e 34 destes foram separados na segunda dimensão. Outros oito compostos foram identificados apenas com o uso da deconvolução espectral, o que indica que a aplicação da 1D-GC poderia resultar na identificação incorreta destes compostos coeluídos. Os ésteres majoritários foram o lactato de etila (345 mg/L), octanoato de etila (45 mg/L) e 2-hidroxibutanoato de etila (24 mg/L). Estes compostos podem contribuir para o aroma frutado. O álcool encontrado em maior concentração foi o 2-feniletanol (356 mg/L) que está relacionado ao aroma floral. O ácido octanóico (160 mg/L) e o ácido isobutírico (8 mg/L) foram os ácidos predominantes e podem contribuir com o aroma descrito como rançoso e “de queijo”, respectivamente. Entre os aldeídos destaca-se a presença do benzaldeído (0,76 mg/L, aroma de amêndoas), seguido do acetaldeído (0,07 mg/L, aroma pungente). As cetonas majoritárias foram a acetoina (180 mg/L) e a 2,3-butadiona (0,18 mg/L), sendo que ambas apresentam aroma amanteigado. O farnesol (2,8 mg/L) e o nerolidol (1,6 mg/L) foram os terpenos predominantes e destacam-se por contribuir para o aroma floral. Além disso, alguns compostos minoritários de outras classes químicas foram tentativamente identificados: 2-tiofenocarboxaldeído (0,03 mg/L), 2-pirrolidinona (0,01 mg/L) e 4-metilguaiacol (0,008 mg/L). Entre estes compostos destaca-se a co-eluição do 2-hidroxibutanoato de etila e (Z)-3-hexen-1-ol, que apresentam contribuições antagônicas para o aroma dos vinhos. O odor deste éster é descrito como floral e o do ácido como rançoso. Estes compostos possivelmente não seriam satisfatoriamente identificados e quantificados, se a 1D-GC fosse utilizada com a mesma fase da 1ª dimensão.

Agradecimentos: CNPq, FAPERGS e CAPES pelo apoio financeiro e bolsas de estudo.



SEÇÃO F



EXTRAÇÃO SÓLIDO-LÍQUIDO PARA ANÁLISE DE GLIFOSATO E AMPA EM AMOSTRAS DE EUCALIPTO POR CG-EM E CG-DNF

Tereza C. P. G. Catrinck, Maria Clara S. Aguiar, Amanda Dias,
Flaviano O. Silvério, Paulo H. Fidêncio, Gevany P. Pinho

Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina - MG, Brasil

Universidade Federal de Minas Gerais, Montes Claros - MG, Brasil

terezacatrinck@gmail.com

O glifosato é um dos herbicidas mais utilizados no controle de ervas daninhas. Tem sido aplicado nas culturas de eucalipto, principalmente devido à indústria de celulose e papel, pois elimina pragas sem interferir no desenvolvimento das mudas. Entretanto, o uso indiscriminado desta substância pode contaminar recursos hídricos, interferindo na fauna e flora, o que ocasionou na determinação de limites máximos de resíduo (LMR) para algumas amostras ambientais. Contudo, sua elevada polaridade e de seu principal metabólito secundário, o ácido aminometilfosfônico proporciona fortes interações entre esta substância e componentes de matrizes diversas, dificultando sua extração para posterior quantificação. Faz-se necessário, então, o desenvolvimento de um preparo de amostras capaz de extrair e concentrar os analitos e eliminar interferentes. Dessa forma, o objetivo com este trabalho foi avaliar a extração sólido-líquido (ESL) no preparo de eucalipto para determinação de glifosato e AMPA por cromatografia gasosa. Neste estudo, foram avaliados dois parâmetros de extração: composição da mistura extratora empregada (NaOH e NaH_2PO_4 a $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e metanol:água 1:1 (v/v)) e região da matriz (ápice e casca); e um parâmetro de determinação: tipo de detector (espectrômetro de massas e detector de nitrogênio e fósforo). O procedimento de ESL foi precedido por uma etapa de trituração da matriz utilizando moinho. A separação do glifosato e AMPA foi realizada em fase estacionária 5 % fenil e 95 % metilpolisiloxano) e nitrogênio (99,996% de pureza) e hélio (99,9999 %) foram utilizados como gás de arraste a uma taxa de $3,0 \text{ mL min}^{-1}$ para o detector de nitrogênio e fósforo e espectrômetro de massas, respectivamente. Os parâmetros de extração foram avaliados de forma univariada buscando a otimização do procedimento de extração e clean-up da amostra. As condições ótimas estabelecidas foram: mistura extratora composta por NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, região da matriz composta pelo ápice e detecção por espectrofotômetro de massa. A eficiência de extração, avaliada pela recuperação média ($n=3$) após fortificação de amostras branco de eucalipto com glifosato e AMPA na concentração de 5 mg L^{-1} , foi de 100 a 30 % para glifosato e AMPA, respectivamente. Os resultados demonstram que o procedimento de ESL foi capaz de conferir recuperação e clean-up, principalmente empregando detectores seletivos como o espectrômetro de massas utilizado neste método.

Agradecimentos - CAPES; CNPq; FAPEMIG.

PURIFICATION OF HUMAN PLASMA PROTEINS BY PSEUDOAFFINITY CHROMATOGRAPHY

Feliciano GP, Verinaud CI, Braga FC, Raw I, Martins EAL, Cheng E, Bemquerer MP*

Centro de Biotecnologia, Instituto Butantan, SP, Brazil

**EMBRAPA Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF, Brazil*

gabriel.feliciano@butantan.gov.br

Several proteins of biotechnological interest can be purified from human plasma, among them are the vitamin K dependent coagulation factors and inhibitors, a family of proteins that comprises coagulation factor II (FII or prothrombin), FVII, FIX, FX and proteins C, S and Z. Factor IX is the most important protein of this family because it is used for the treatment of hemophilia B. All processes used to obtain concentrates of these proteins involve a step of anion exchange chromatography, since vitamin K dependent proteins bind stronger than most of the plasma proteins to the resin and a good purification factor can be achieved. A common method used to elute proteins from the column is by increasing the concentration of NaCl. It is known from the coagulation cascade that calcium induces a conformational change in the vitamin K dependent proteins so that these proteins can express their activities. This feature can be applied to protein purification because the conformational change induced by Ca(II) also modifies the affinity of these proteins to the anion exchange resin. Therefore, vitamin K dependent proteins can be eluted from an anion exchange column by increasing Ca(II) concentration. Using a protocol that alternates anion exchange (elution with NaCl) and pseudoaffinity chromatography (elution with CaCl₂), vitamin K dependent proteins were eluted with citrate buffer containing 25mM CaCl₂. Using the same protocol without increasing CaCl₂, vitamin K dependent proteins could only be eluted with 500 mM NaCl. The fraction eluted with 25mM CaCl₂ was analyzed by SDS-PAGE and mass spectrometry (MS/MS-MALDI-TOF, Ultraflex III, Bruker Daltonics, Billerica, MA). Partial identification based on sequencing of tryptic peptides revealed the presence of factor II (prothrombin), fibrinogen, human complement protein C4 and C4b binding protein. Factor II and fibrinogen are proteins involved in blood coagulation, while protein C4 and C4b binding protein belong to the complement system, a set of plasma proteins involved in the response to the attack of pathogens. Of the identified proteins, only FII is a vitamin K dependent protein. The fact that C4b binding protein circulates in blood complexed with protein S, a vitamin K dependent protein, can explain the presence of this protein in the chromatographic fraction. Elution of proteins other than vitamin K dependent proteins by increasing the Ca(II) concentration indicates that pseudoaffinity chromatography can have a wider application than first envisaged.

Supported by Fundação Butantan, CAPES, CNPq.



NOVA TECNOLOGIA PARA ECONOMIZAR HÉLIO EMPREGADO NA CROMATOGRAFIA EM FASE GASOSA

A. Caruso¹, M. Santoro¹, P. Magni¹, S. Pelagatti¹, R. Facchetti¹, Henrique F. Melo²

¹Thermo Fisher Scientific, Milan, IT

²Nova Analítica, São Paulo, SP, BR

henrique.melo@novanalitica.com.br

A crise no fornecimento de gás hélio afeta negativamente as atividades nos laboratórios de análises químicas em todo o planeta. Embora o consumo de hélio no segmento de GC & GC-MS seja menor do que 1% do consumo global por ano, a escassez e interrupções do fornecimento desse gás têm amplas consequências para os laboratórios que utilizam técnicas analíticas diversas. Existem diferentes abordagens para enfrentar a escassez de hélio na GC & GC-MS, como reduzir a razão de split no injetor ou mudar o gás de arraste para outro gás, como o hidrogênio ou ainda mudar o gás na coluna analítica quando o GC ou GC-MS estão no modo de espera. Todas essas soluções apresentam alguma desvantagem: reduzir a razão de split pode afetar a exatidão na injeção de volumes pequenos; o hidrogênio requer a transferência e otimização dos métodos em uso; a troca do gás quando o instrumento está em espera não é aplicável aos laboratórios de rotina e requer algum tempo para retornar ao hélio antes do reinício das análises. Uma nova solução reduz o consumo de hélio, mantendo o emprego do injetor habitual Split Splitless (SSL). Uma tecnologia inovadora permite instalar um módulo no injetor SSL que passa a ser alimentado com dois gases: hélio para o fluxo na coluna analítica e nitrogênio na purga do septo, fluxo no split e vaporização da amostra. O injetor SSL permanece exatamente o mesmo e o fluxo de gás de arraste hélio através da coluna analítica também continua o mesmo especificado no método. Esta tecnologia permite a economia de hélio durante a corrida analítica, bem como quando o instrumento está ocioso, eliminando assim o desperdício de hélio que ocorre habitualmente nos cromatógrafos a gás. Como todas as condições analíticas permanecem as mesmas, os tempos de retenção não se alteram. Os métodos são mantidos intactos, mantendo sua validação e conformidade com as normas. Serão apresentados os resultados obtidos em um estudo comparativo do desempenho de dois injetores SSL, com e sem este módulo economizador de hélio. Os parâmetros investigados foram: repetibilidade nos modos split e splitless, linearidade da razão de split, discriminação de compostos com alto ponto de ebulição, atividade em relação a compostos instáveis e comparação dos cromatogramas obtidos com os dois injetores quanto às áreas e tempos de retenção dos picos cromatográficos.

DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA PARA DETERMINAÇÃO DE BTEX EM ÁGUA E CERTIFICAÇÃO DE MRC

Elaine B. Santana (PG), Lucas J. de Carvalho (PG)*, Eliane C. P. do Rego1 (PQ)

*Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia - Inmetro
Av. Nossa Senhora das Graças, 50, 25250-020, Duque de Caxias - RJ - Brasil
ljcarvalho@inmetro.gov.br*

Os BTEX (benzeno, o tolueno, o etilbenzeno e os xilenos (-orto-, meta- e para-)) possuem alto grau de toxicidade e efeitos nocivos à saúde pública^[1,2], com destaque para o benzeno, uma substância comprovadamente carcinogênica^[3]. A análise destes contaminantes com enfoque metrológico torna-se fundamental, pois possibilita o conhecimento do nível de contaminação com elevada confiabilidade nos resultados. Para isso é essencial a disponibilidade de Materiais de Referência Certificado (MRC), que podem ser usados na validação e controle da qualidade de métodos ou calibração da instrumentação analítica. Este trabalho descreve o método desenvolvido para determinação de BTEX em água através de um método primário de medição, cromatografia gasosa com espectrometria de massas, utilizando a técnica de diluição isotópica (CG/EMDI), que será aplicado nos estudos de certificação do candidato à MRC de BTEX em água. Estes estudos consistem em determinar a homogeneidade, caracterização e estabilidade do material. Foi desenvolvido e validado um método com Purge & Trap (P&T) e CG/EMDI, onde são utilizados padrões internos isotópicos de cada analito. Todos os padrões e amostras foram preparados gravimetricamente. As condições do método foram as seguintes: 4 mL de amostra, tempo de purga 11 min (40mL/min.), temperatura de dessorção de 200°C (150 mL/min. por 3 min.) e Bake de 6,5 min na temperatura de 260° C (200mL/min.). Temperatura do injetor: 200°C, split 1:40, coluna ZB-Wax (30 m x 320 mm DI x 0,50 µm filme) a 45°C por 12 min, rampa de 30° C/min até 100° C permanecendo por 1 min, temperatura da linha de transferência e da fonte: 180 °C e 230 °C, respectivamente; Modo SIM, monitorando os íons para o benzeno/PI* 78/84, tolueno, etilbenzeno e xilenos / PI* 91/98 (*Os PIs são os respectivos analitos perdeuterados). A metodologia foi validada, apresentando seletividade nos sinais cromatográficos e espectros de massa, método linear na faixa de trabalho (0,0055 - 0,0160 µg/g), com gráfico de resíduos livre de tendências. A recuperação, repetibilidade e precisão intermediária ficaram dentro dos critérios estabelecidos erro percentual inferior a 8% na recuperação, desvio padrão relativo menor que 5% para repetibilidade e precisão intermediária). Este método mostrou-se adequado para desenvolvimento de um MRC, visto que o uso de métodos primários e preparos gravimétricos conferem rastreabilidade e confiabilidade às medições. A sensibilidade da técnica permitiu a análise de amostras de candidato a MRC adequado aos limites estabelecidos pela resolução CONAMA 357/2005, que foi preparado na concentração de 10µg/L para cada analito.

[1] Watts, R. J.; Haller, D. R.; Jones, A. P.; Teel, A. L.; J. Hazard. Mater., 2000,76.

[2] Römmelt, H.; Pfaller, A.; Fruhman, G.; Nowak, D.; Sci. Total Environ., 1999,241.

[3] Corseuil, H. X.; Hunt, C. S.; Santos, R. C. F.; Alvarez, P. J. J.; Water Res., 1998, 32, 2065.

Agradecimento - Ao Inmetro (metrologia científica e mestrado profissional).



DETERMINAÇÃO DE ANTI-INFLAMATÓRIOS E CAFEÍNA EM CORPOS HÍDRICOS DO RIO DE JANEIRO POR LC-ESI-MS

Natália G. Figueiredo¹, Luths R. de O. Geaquinto¹, Karla P. M Licon²,
Lídia Yokoyama², Simone C. Chiapetta¹

¹Laboratório de Tabaco e Derivado, DQAN, INT - RJ

²Universidade Federal do Rio de Janeiro, UFRJ - RJ

natalia.figueiredo@int.gov.br

Fármacos atualmente são considerados uma das principais fontes poluidoras de águas, devido ao uso irracional e descarte inadequado destes micropoluentes. Dessa forma, são continuamente introduzidos no meio ambiente o que pode afetar a qualidade da água, a saúde dos ecossistemas e, impactar o suprimento de água potável levando ao surgimento de efeitos nocivos à população. As baixas concentrações em que estão presentes apontam para a necessidade do desenvolvimento de métodos sensíveis e seletivos que permitam sua caracterização em amostras de água contaminada. Para este trabalho, foram selecionados os anti-inflamatórios paracetamol, dipirona, ibuprofeno e diclofenaco por serem fármacos de venda livre de uso bastante difundido no Brasil, e a cafeína que é utilizada como marcador de atividade humana. Foram utilizadas amostras de água classe II e III, segundo a Resolução CONAMA 357, coletadas em corpos hídricos da região da Baía de Guanabara. Os experimentos foram realizados em sistema HPLC-MS (Prominence UFLC System, Shimadzu-HCTultra High Capacity Ion Trap, Bruker Daltonics) utilizando coluna Zorbax Eclipse XDB C18 (4,6 x 75 mm, 3µm). O método otimizado consistiu em um gradiente binário de acetonitrila e acetato de amônio (10 mM) em vazão 1 mL.min⁻¹ com um total de 30 min de análise. O volume de injeção foi de 3 µL e a temperatura da coluna mantida em 50 °C durante toda a análise. A detecção foi realizada em espectômetro de massas do tipo ion trap com interface ESI em modo positivo de ionização. Foram monitoradas as transições 152>110 m/z (Paracetamol); 195>138 m/z (Cafeína); 218>187 m/z e 230>202 m/z (Dipirona); 296>278 m/z (Diclofenaco) e 224>207 m/z (Ibuprofeno). As curvas analíticas apresentaram linearidade dentro de sua faixa de aplicação e $r^2 > 0,998$ para todos os analitos. A concentração e limpeza das amostras foram realizadas por extração em fase sólida (SPE) com cartucho Strata C18 Phenomenex condicionado com água em pH 3,0 e eluído com metanol. Os ensaios de recuperação foram realizados com água ultrapura e soluções de ácido húmico (5 mg.L⁻¹) fortificadas com 1 ug.L⁻¹ de cada um dos compostos estudados. O fator de concentração foi de 2500 e as amostras ressuspendidas em metanol:água (1:1, v/v). As recuperações variaram de 70% para a cafeína e acima de 90% para os demais analitos. A cafeína e o diclofenaco foram encontrados nas 7 amostras analisadas. A concentração dos demais fármacos variou de 9 ug.L⁻¹ a 15 ug.L⁻¹. A similiaridade entre as taxas de recuperação obtidas para amostras sintéticas (sol. ác. húmico, 5 mg.L⁻¹) e para amostras de água ultrapura comprova a capacidade do método de SPE na eliminação de possíveis interferentes presentes na matriz. Os resultados demonstraram o estado de degradação das águas que abastecem estações de tratamento e podem ser aplicados para avaliação da eficiência de processos convencionais e avançados de tratamento de água.

Agradecimentos - CNPq, INEA.

EFFECTS OF GAMMA RADIATION ON METHANOLIC EXTRACT OF CASTOR BEANS SEEDS

Sousa, R. B.;^{1*} Vital, H.C.;² Lima, K.S.C.;¹ Lima, A.L.S¹

¹*Instituto Militar de Engenharia (IME), Seção de Ensino de Química,
Praça General Tibúrcio, 80, 22290-270, Rio de Janeiro – RJ – Brasil*

²*Centro Tecnológico do Exército (CTEx), Divisão DQBN,
Av. das Américas, 29470, 23020-470, Rio de Janeiro - RJ - Brasil
rbtsousa@gmail.com*

Castor beans seeds were exposed to 1 kGy, 3 kGy and 5 kGy gamma radiation doses in a shielded cavity irradiator with Cs-137 source. A not irradiated sample was used as a group control. Methanolic extract of the crushed seeds was filtered in a syringe filter and analyzed by GC-MS. Analysis were carried out in a Thermo Scientific Trace 1300 GC coupled to TSQ 8000 triple quadrupole MS. A TG-SQC column with 15m x 0.25 mm x 0.25 µm, stationary phase 5% diphenyl and 95% dimethylpolysiloxane was used. Chromatographic conditions were: linear heating from 313 to 573 K with rate of 10 K/min, split 1:10 and flow rate of 1 mL/min. Mass spectra were obtained in positive acquisition mode, 70 eV, full scan range 40 - 400 Da. Data were compared to reference spectra in NIST 11 Mass Spectral Library (v. 2011). Statistical methods were employed to analyze the experimental data by using the Software Statistica, v. 8.0 (2007). Means, variances and confidence intervals of the peak areas were calculated and T-student test was used to compare the results of the different samples. Modifications in the chemical composition of the samples were observed even when castor beans were subjected to the smaller dose (1 kGy). Different doses of radiation correspond to different compositions. The correlation coefficient between the peak areas and the radiation doses presented positive values for molecules with lower molecular weights and negative values for the heaviest ones. It may indicate radiation doses causes fragmentation in the biggest molecules. When comparing different peaks, some chemicals presented a very strong negative correlation each other (less than - 0.90), indicating the variation of their peak areas are inversely proportional. Results showed glyceryl ricinoleate (2,3-dihydroxypropyl (E)-12-hydroxyoctadec-9-enoate) was the major component in methanolic extract of not irradiated castor beans seeds. Its content was about 90%. However, this value strongly decreased in samples exposed to gamma radiation. On the other hand, the amount of ricinine (3-pyridinecarbonitrile,1,2-dihydro-4-methoxy-1-methyl-2-oxo) in the methanolic extract strongly increased with the gamma radiation doses. This result is according to previous literature studies that show glycerol as a precursor in biosynthesis of ricinine.

Aknowledgments - Brazilian Army and CAPES.

ELECTROSPRAY-TANDEM MASS SPECTROMETRY FINGERPRINT OF FERMENTED JABUTICABA DRINK

Douglas de Andrade, Diogo Miranda, Helio A. Martins-Junior

*AB SCIEX, Rua Verbo Divino, 1488, São Paulo-SP
douglas.andrade@absciex.com*

Jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*) is a Brazilian fruit, with unknown origin and usually found in São Paulo, Minas Gerais, and Goiás. Back to nineteenth century, Italian immigrants who wanted to perpetuate his custom manufacturing and consumption of wine, not finding the grapes to which they were accustomed, then they began to make wine from jaboticabas, which is made until today. It is well known that grape wine has a large group of hundred chemical compounds that affect the taste, color mouthfeel, known and unknown biological effects. In this work we used the flow injection analysis on an AB SCIEX TripleTOF 5600 mass spectrometer to profiling and identify the jaboticaba's fermented drink main components to correlate its major compounds with different grape wines. The principal component analysis was used to allow the visualization of their differences and correlate them accordingly. In addition, collisionally-induced dissociation (CID) experiments were performed to characterize the jaboticaba's drink main compounds using the high resolution and mass accuracy measurements.

EMPREGO DA TÉCNICA HIFENADA DE LC-ICP-MS NA SEPARAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE ESPÉCIES DE SELÊNIO

Adriano PERON^{1*}, Fabio SILVA¹, Marcelo MORGANO², Raquel MILANI², Alexandre SOUZA³

¹Agilent, Av. Dr.Marcos Penteado Ulhôa, 939, Barueri, SP

²ITAL, Av. Brasil 2880, Campinas, SP

³IQUSP, Av. Prof. Lineu Prestes, 748, São Paulo, SP

*adriano.peron@agilent.com

Em 1818, Berzelius em Gripsholm (Suécia) identificou o selênio (Se) como um novo elemento químico^[1]. Seu significado biológico não foi reconhecido até 1855. A descoberta, em 1957, de que Se era um elemento essencial^[1] levou a uma inteiramente nova era de pesquisa que continua até os dias de hoje. Em vez de se preocuparem somente com sua toxicidade, nutricionistas voltaram sua atenção para a função metabólica deste importante elemento e as consequências de sua deficiência. O Se é capaz de formar centros ativos com enzimas responsáveis por vários mecanismos de^[1,2]. A identificação e quantificação das espécies de Se é crucial para entender o seu metabolismo e sua importância na biologia, toxicologia química, clínica e nutricional. O desenvolvimento contínuo de novas e a melhoria das técnicas analíticas existentes e a união das técnicas de separação com as de identificação forneceram diferentes e poderosas ferramentas para desvendar as espécies Se e suas funções^[1,2]. Assim, o presente trabalho descreve um método simples e rápido para a separação e quantificação das espécies de selênio; Selenocistina, Se (IV), Selenometionina e Se (VI) por LC-ICP-MS, em 3 amostras comerciais de suplemento alimentar. A separação foi realizada com uma coluna C18 Zorbax Eclipse Plus[®] (150 mm de comprimento e tamanho de partícula de 3,5 µm) e fase móvel preparada com cloreto de tetraetilamônio 0,075% m v-1 em pH 4,5 proposta por Muniz-Naveiro, et al.^[3]. O método empregou, para separação das espécies de Se, um cromatógrafo líquido modelo 1260[®] e, como detector elementar, um espectrômetro de massa com plasma indutivamente acoplado modelo 7700x[®] ambos da Agilent Technologies. As melhores condições para o ICP-MS foram; RF Potência 1600 W, o fluxo de gás nebulizador 1,05 L / min, gás auxiliar de fluxo de 0,9 L / min; além das condições do cromatógrafo: fluxo de fase móvel de 0,5 mL min⁻¹ e temperatura do compartimento de coluna de 15 C. Nessas condições, a ordem de eluição foi; Selenocistina (2,83 min), Se (IV) (3,66 min), selenometionina (4,59 min) e Se (VI) (7,19 min). As curvas de calibração foram preparadas em meio da fase móvel, nas concentrações que variaram de 0,5 a 50 µg L⁻¹ e com coeficiente de correlação acima de 0,999. A exatidão deste método foi avaliada com adição de padrão com recuperações próximas a 100 %.

Referências

- [1] Reilly, C., Selenium in Food and Health, Second Edition, 2006, Springer, Media, LLC, New York, USA.
- [2] Rotruck, J. T., et. al, Selenium:.. Science 179 (1973) 588–590.
- [3] Muniz-Naveiro, O., R. Dominguez-Gonzalez, et al.. Talanta, v.71, n.4, Mar 15, p.1587-1593. 2007.

Agradecimentos - FAPESP, CNPQ, CAPES, IQ-USP, ITAL, AGILENT TECHNOLOGIES.



ANÁLISES DE OXIDAÇÃO DE TRIAZINAS VIA CROMATOGRÁFIA GASOSA/ESPECTROMETRIA DE MASSAS

Kelly A. Ribeiro Tagliaferro, Maria A. Braga de Oliveira, Maria A. Carvalho de Medeiros*

Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP – Faculdade de Tecnologia

Rua Paschoal Marmo, 1888, Limeira-SP

**mariaacm@ft.unicamp.br*

Os resíduos de herbicidas triazínicos são compostos com moderada toxicidade, altamente persistentes no ambiente e perigosos aos organismos aquáticos, contaminando os mananciais e águas subterrâneas. Os herbicidas triazínicos são muito utilizados em várias culturas inclusive da cana-de-açúcar^[1]. Neste sentido, os processos metabólicos dos herbicidas triazínicos atrazina e simazina, que são os mais amplamente utilizados, têm sido estudados na literatura, utilizando compostos modelos biomiméticos (metaloporfirinas) do citocromo P450^[2]. O presente projeto visa o estudo das reações de oxidação catalisadas por metaloporfirinas de rutênio e de segunda geração de ferro, utilizando o peróxido de hidrogênio como oxidante. Dois herbicidas da classe das triazinas (atrazina e simazina) foram oxidados e os produtos gerados na reação foram analisados via cromatografia gasosa associada à espectrometria de Massas (GC-MS/MS), buscando elucidar o mecanismo de degradação dos precursores e as estruturas dos subprodutos. As reações de oxidação dos herbicidas triazínicos e os subprodutos gerados foram monitorados por espectrofotometria UV-Vis e cromatografia gasosa(GC)(Trace GC Ultra), acoplada ao detector de espectrometria de massas tandem(GC-MS/MS) que foi instalado no Laboratório da FT-UNICAMP, marca Thermo ITQ900, software (Xcalibur). Os rendimentos das reações de oxidação das triazinas com H₂O₂ e catalisadas pelas metaloporfirinas de ferro (Fe(FTTPCl)) e rutênio (Ru(OCTTPP)) nas etapas do presente projeto, variaram de acordo com as condições de reações catalíticas, sendo que analisando por espectrometria de massas, foram observados melhores resultados com a otimização das concentrações dos herbicidas triazínicos para 1 mg/L, tendo sido observado que houve significativa degradação da atrazina(ATZ)(94,70%) e da simazina(SIM)(92,60%), utilizando a metaloporfirina de ferro(MetFe), sendo que utilizando-se a metaloporfirina de rutênio o rendimento máximo alcançado foi de 94,38% para a ATZ e 67,19% para a SIM. Foram observadas nestas reações as conversões dos herbicidas nos subprodutos deetilatraxina(DEA) e o deisopropilatraxina(DIA). Esta concentração otimizada de 1 mg/L é adequada para as injeções no GC/MS. Os dados de monitoramento das reações catalíticas por UV-Vis revelaram as estabilidades dos catalisadores metaloporfirínicos de ferro e de rutênio, no meio oxidante. Os resultados preliminares obtidos com a cromatografia gasosa acoplada com a espectrometria de massas(GC-MS/MS), utilizando a técnica de ionização por impacto de elétrons (electron ionization) – EI, full scan, com o modo positivo (EI+), revelaram o pico do íon molecular (m/z= 215), associado ao herbicida e também picos de subprodutos DEA e DIA.

[1] H. Chen, E. Bramanti, I. Longo, M. Onor, C. Ferrari, Journal of Hazardous Materials, 186, 28, 2011, 1808-1815.

[2] MANSUY, D., C. R. Chimie, 10, 392-413, 2007.

Agradecimentos - Ao Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica PIBIC/CNPq - PRP-UNICAMP, CNPq, FAPESP, UNICAMP.

DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIA ANALÍTICA PARA DETECÇÃO DE FRAUDE EM CAFÉ POR UPLC-QTOF

PASSOS, C.P.²; SANTIAGO, M.C.P.A.¹; PACHECO, S.¹;
NASCIMENTO, L.S.M.¹; GOUVEA, A.C.M.S.²; BORGUINI, R.G.¹; GODOY, R.L.O.¹

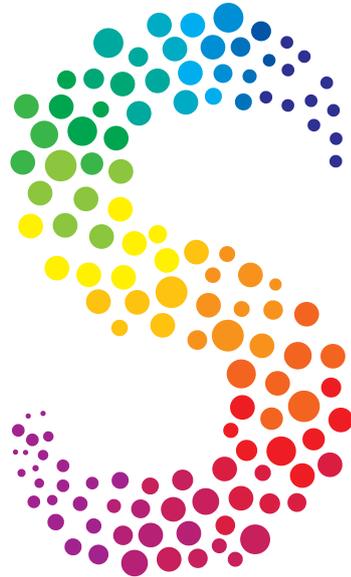
¹Embrapa Agroindústria de Alimentos, Avenida das Américas, nº29.501, Guaratiba, Rio de Janeiro

²UFRRJ, Rodovia BR 465, Km 7, Seropédica, Rio de Janeiro

carolpassos_c@hotmail.com

O Brasil é o principal produtor e exportador de café, responsável por mais de um terço da produção mundial. Com o crescimento do mercado mundial de café a exigência pela qualidade do produto é cada vez maior. Em 2010, a Instrução Normativa nº16 do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento estabeleceu o percentual máximo permitido de 1% de impurezas (casca e paus), sedimentos (pedras, torrões e areia) e matéria estranha (milho, centeio, açúcar, cevada, semente de açaí, entre outras) em conjunto no café. Com isso, a demanda por métodos com maior sensibilidade na detecção de contaminantes e adulteração do café é uma necessidade. A análise do teor de açúcares que não se encontram naturalmente presentes no café é uma alternativa para a investigação de adulteração. A maltose é um indicador da adição de milho; 1-cestose, nistose e 1-b-frutofuranosil nistose indicam a adição de trigoilho e cevada; rafinose e estaquiase indicam a adição de soja. Técnicas como a cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas são bastante úteis nesses casos, pois esta possui alta sensibilidade e especificidade na detecção de substâncias em baixas concentrações. Com o objetivo de desenvolver uma metodologia por UPLC-QTOF para a quantificação destes compostos em baixos níveis de concentração, nesta primeira etapa foram otimizadas as condições e voltagens para a obtenção dos espectros de massa dos açúcares maltose, 1-cestose, nistose, 1-b-frutofuranosil nistose, rafinose e estaquiase. Foram preparadas soluções dos padrões de açúcares em acetonitrila: 0,1% ácido fórmico em água (50:50) e analisados através da infusão direta em espectrômetro de massas ESI-QTOF. Assim, os açúcares foram monitorados através de sua massa exata e dos fragmentos gerados. Foram obtidos os espectros de massa acurada da maltose, 1-cestose, nistose, 1-b-frutofuranosil nistose, rafinose e estaquiase. Nos espectros de massa de todos os açúcares observou-se a massa molecular do açúcar (M) acrescidos de 23 unidades de massa, devido a formação de aduto com sódio $[M+Na]^+$ e ainda, fragmentos gerados pela perda de 162 unidades de massa $[M+Na-162]^+$. Além disso, para a 1-cestose, nistose, 1-b-frutofuranosil nistose foram observados os fragmentos gerados pela perda de 180 unidades de massa $[M+Na-180]^+$, tornando possível a distinção entre os isômeros nistose e estaquiase, e rafinose e 1-cestose.

Agradecimentos - CAPES e Embrapa.



SEÇÃO G

ESTUDO DO NÍVEL DE BIODEGRADAÇÃO POR GCXGC DE ÓLEOS DA BACIA DE CAMPOS-RJ

Paloma Santana Prata*, Noroska Gabriela Salazar Mogollón, Fabio Augusto

Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química, 13083-970, São Paulo-SP, Brazil
palomaprata30@gmail.com

O petróleo consiste em uma mistura complexa formada por hidrocarbonetos alifáticos, alicíclicos, aromáticos, resinas, asfaltenos e compostos contendo nitrogênio, enxofre e alguns metais como níquel e vanádio. Estes compostos possuem diversas propriedades físico-químicas, e podem ser susceptíveis a biodegradação por diferentes tipos de microorganismos. Estes microorganismos possuem enzimas capazes de utilizar como fonte de nutrientes e energia compostos provenientes do petróleo. Os constituintes mais fáceis de serem degradados são dos hidrocarbonetos saturados de cadeia curta, como os alcanos lineares, seguidos por compostos cíclicos e compostos poliaromáticos. O aumento da biodegradação influencia na composição química do petróleo, devido principalmente as diversas espécies que podem estar presentes nas rochas reservatórios, bem como a presença de meios redutores ou oxidantes, temperatura e pressão no período de surgimento, migração e maturação do óleo. A Cromatografia gasosa bidimensional abrangente (GCxGC) destaca-se principalmente pela análise sem pré-tratamento amostral e por nos oferecer um máximo de informações em uma única análise [3]. Sendo assim, a GCxGC tornou-se uma das principais técnicas na análise de misturas de alta complexidade, tais como drogas e ervas medicinais, alimentos, amostras biológicas e petróleo. Este trabalho teve como o principal objetivo otimizar as melhores condições para análise do perfil de petróleo por GCxGC-FID feita com modulador de Loop, preparo das amostras (retirada de asfaltenos), bem como análise dos cromatogramas obtidos dos óleos com diferentes níveis de biodegradação (P1- leve; P2- Moderado a Alto; P3- Leve a Moderado, P4- Alto; P5- Leve) proveniente da mesma fonte, mesmo nível de maturidade e provenientes da bacia de Campos-RJ. Foi possível observar os diferentes níveis de biodegradabilidade apenas pelo perfil cromatográfico das amostras estudadas. Com o aumento da biodegradação, observou-se que as intensidades de muitos compostos diminuem, no qual a faixa de n-alcanos entre C8-C12 são preferencialmente consumidos. Esta preferência ocorre devido a um substrato específico presente em enzimas monooxigenase aeróbica. O óleo P4 apresentou uma baixa intensidade de compostos de baixo peso molecular, diferenciando-os dos óleos com nível de biodegradabilidade leve. Com o aumento da biodegradação, há a diminuição da intensidade dos compostos, observados visualmente. Os n-alcanos, a maior parte dos isoprenóides acíclicos e alguns esteranos foram completamente removidos do óleo P4, mas os hidrocarbonetos aromáticos ainda continuam presentes. Concluiu-se que foi possível observar o nível de biodegradabilidade apenas por comparação dos perfis cromatográficos bidimensionais.

Agradecimentos: CAPES, CNPq, PETROBRÁS.



HS-SPME E GCXGC NA AVALIAÇÃO DA EVOLUÇÃO DO PERFIL VOLÁTIL DO PROCESSAMENTO DO CHOCOLATE

Soraia C. G. N. Braga, Luciana F. Oliveira, Jadson Reis,
Juliana C. Hashimoto, Ronei J. Poppi, Fabio Augusto

*Instituto de Química – Unicamp e INCTBio, Faculdade de Engenharia de Alimentos,
Unicamp, CP 6154, 13084, Campinas, São Paulo
soraia.neves@iqm.unicamp.br*

Os aromas do cacau e chocolate residem na fração volátil, que é formada por mais de 500 compostos, e por ter sabor, textura e aroma únicos é um dos alimentos que mais agradam os consumidores do mundo. Utilizou-se SPME e GCxGC, para determinar o perfil volátil de nibs, liquor e chocolate de amostras advindas de cinco diferentes regiões: quatro são originárias do Brasil dos estados Espírito Santo, Bahia, Pará e Rondônia, e a última é originária da Costa do Marfim, sendo que em cada etapa havia uma amostra de cada origem. Para a extração, 1,000(+/-0,005) g de cada amostra era pesado em um vial de 15 mL, sendo os nibs trituradas em um liquidificador, utilizando-se N₂ líquido e, ao vial extrator, eram adicionados 2 mL de solução de NaCl saturada. A extração era conduzida por 50 min. a 60°C utilizando-se uma fibra stableflex DVB/CAR/PDMS de 2 cm. e a fibra era então desorvida no injetor de um cromatógrafo Shimadzu QP2010 plus adaptado para GCxGC por 5 min. O cromatógrafo operava nas condições jogo de colunas HP5 (30 m, 0,25 mm, 0,25 µm) x Solgel Wax (0,80 m, 0,1 mm, 0,1 µm), T_{inj}=260°C, programação de temperatura do forno 40°C, 3 °C min⁻¹ até 110°C e 10 °C/ min até 240°C (4 min.), splitless, vazão de 0,60 mL/min temperatura da interface 260°C, temperatura da fonte de íons 250°C, voltagem do detector 0,90 V, aquisição de 40 a 350 m/z, frequência de aquisição 25 Hz e período de modulação de 6 segundos. Assim, após a identificação tentativa dos constituintes destas amostras, utilizando o índice de retenção e a biblioteca NIST 8.0, os picos resolvidos e identificados foram integrados. Utilizando as áreas deste picos foi realizada uma PCA entre cada etapa, para determinar os compostos que tiveram maior variação entre as etapas nibs-liquor e liquor-chocolate. Na PCA entre nibs e liquor, 3 componentes principais (CPs) foram utilizadas e a CP 3 foi a responsável pela separação entre estas duas etapas. Utilizando os loadings desta CP, pode-se verificar os compostos com maior peso na separação, e os que estão em maior quantidade no liquor são: pentanal, ácido acético, metil-pirazina, 2,5-dimetil-pirazina, 2,3-dimetil-pirazina, trimetil-pirazina, 2-etil-hexan-1-ol, 2(ou3)-etil-3,5(ou 2,5)-dimetil-pirazina e 5-metil-2-(1-metil-etil)-hexen-2-al, sendo principalmente as pirazinas formadas na etapa de torrefação. Já na PCA ente liquor e chocolate, 3 componentes principais foram utilizadas e onde a terceira CP era responsável pela separação. Da mesma forma, observando os loadings, os compostos em maior quantidade no chocolate são: pentanal, 2,3-butanediol, tolueno, hexanal, metil-pirazina, 1,3,5,7-ciclo-octatetraene, limonene, 2-etil-hexan-1-ol, 1-octanol e nonanal. Assim, utilizando SPME e GCxGC foi possível determinar os compostos que diferenciaram as etapas do processamento do chocolate estudadas, através da utilização do PCA.

Agradecimentos: Ao CNPq, FAPESP e CAPES.

SPME E GCXGC PARA AVALIAÇÃO DE NIBS DE CACAU DE DIFERENTES REGIÕES UTILIZANDO MÉTODOS QUIMIOMÉTRICOS

Soraia C. G. N. Braga, Luciana F. Oliveira, Ronei J. Poppi, Fabio Augusto

Instituto de Química – Unicamp e INCTBio, CP 6154, 13084, Campinas, São Paulo
soraia.neves@iqm.unicamp.br

O cacau dá origem a um dos alimentos que mais agradam os consumidores no mundo, o chocolate. Para um chocolate ter sabor e aroma agradáveis o tipo e a origem do cacau são determinantes, além de todas as etapas de processamento. Neste trabalho, amostras de nibs (amêndoas do cacau descascadas) de três diferentes estados brasileiros: Bahia, Pará e Rondônia e da Costa do Marfim foram utilizadas para tentar identificar compostos que classificavam essas amostras em dois grupos, sendo o número total de amostras 28. As amostras de nibs eram trituradas em um liquidificador de laboratório após resfriamento com nitrogênio líquido e eram pesados 1,000 (+0,005) g em um vial de 15 mL onde adicionava-se 2 mL de solução saturada de NaCl. A extração era conduzida por 50 min. a 60°C utilizando-se uma fibra stableflex DVB/CAR/PDMS de 2 cm., que posteriormente era dessorvida por 5 min no injetor de um cromatógrafo Agilent 6890n com detecção por FID, adaptado para GCxGC. O cromatógrafo operava nas condições: jogo de colunas HP5 (30 m, 0,25 mm, 0,25 µm) x Solgel Wax (0,80 m, 0,1 mm, 0,1 µm), $T_{inj}=260^{\circ}C$, programação de temperatura do forno 40°C, 3 °C/min até 110°C e 10 °C/min até 240°C (4 min.), splitless, vazão de 0,60 mL/min, $T_{det} 260^{\circ}C$, frequência de aquisição 100 Hz e pm 6 s. Os cromatogramas obtidos foram exportados em txt, alinhados utilizando-se o algoritmo COW e normalizados. Para diferenciar entre as amostras de nibs originárias do Brasil e da Costa do Marfim, foi utilizada a razão de Fisher. Foi calculada uma razão de Fisher para cada variável dos cromatogramas desdobrados e foram realizados cortes. O melhor valor de corte foi escolhido baseando-se na análise de componentes principais (PCA). Houve a separação entre as duas classes quando utilizou-se o corte que incluía 959 variáveis e o modelo explicou 94% da variação dos dados (PC1xPC2). Analisando as variáveis utilizadas no modelo cerca de trinta e oito possíveis compostos foram encontrados, e para identificação destes algumas amostras foram selecionadas e analisadas por GCxGC-MS. Por comparação do índice de retenção, os compostos com pesos de Fisher acima do corte foram identificados, dentre eles: pentanal, 2-pentenal, (2E)-, hexanal, ácido acético butil éster, 5-hexen-2-ona, 5-metil-, furfural, nonano, ácido 2-butenóico, 2-metilpropil éster, dihidro-2(3H)-furanona, benzaldeído, 2-pentil-furano, 2-etil-5-metil-pirazina, trimetil-pirazina, limoneno, 1-nonen-4-ol, 2,3,3-trimethyl-4-noneno, 2-metil-decano, ácido butanóico 1-metil-2-oxopropil éster e 2-isopropil-5-metil-hex-2-enal. Assim, como estes compostos estão presentes na amostras das duas regiões, a diferenciação ocorreu por diferença nas concentrações destes compostos, sendo que os nibs da Costa do Marfim apresentarem quantidades maiores destes constituintes.

Agradecimentos: Ao CNPq, FAPESP (processo nº 2012/14695-8) e CAPES.



TUNING THE SELECTIVITY OF IONIC LIQUID STATIONARY PHASES FOR MULTIDIMENSIONAL GAS CHROMATOGRAPHY

Leandro W. Hantao, Ali Najafi, Cheng Zhang, Fabio Augusto, Jared L. Anderson

*Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP;
Department of Chemistry, The University of Toledo, Toledo, OH, United States
leandro.hantao@iqm.unicamp.br*

In this study, a series of ionic liquids (ILs) are evaluated as stationary phases in comprehensive two-dimensional gas chromatography (GC × GC) for the separation of aliphatic hydrocarbons from kerosene - often referred to as the unresolved complex mixture in separation science. IL-based stationary phases were carefully designed and characterized by the Abraham solvation parameter model. The role of cavity formation / dispersive interaction was examined on the chromatographic retention of nonpolar analytes by GC × GC. The maximum allowable operating temperature (MAOT) of the IL-based columns was compared to that of commercial IL-based columns. Evaluation of the solvation characteristics of GC columns guided the selection of the best performing IL-based stationary phases for the resolution of aliphatic hydrocarbons, namely, trihexyl(tetradecyl)phosphonium tetrachloroferrate ([P66614][FeCl₄]) and trihexyl(tetradecyl)phosphonium tris(pentafluoroethyl)trifluorophosphate ([P66614][FAP]) ILs. The best performing [P66614][FeCl₄] IL-based column exhibited a MAOT of 320 °C, higher than the commercial SUPELCOWAX 10 (MAOT of 280 °C) and commercial IL-based columns (MAOT up to 300 °C). The structurally tuned [P66614][FeCl₄] IL stationary phase exhibited improved separation of aliphatic hydrocarbons by GC × GC compared to the commercial columns examined (e.g., OV-1701, SUPELCOWAX 10, SLB-IL60, SLB-IL100, and SLB-IL111)

Acknowledgements: São Paulo Research Foundation (Grant: BEPE 12/22375-3).

APLICAÇÃO DE GCXGC-QMS NO ESTUDO DE METABÓLITOS VOLÁTEIS DE FUNGOS INIBIDORES DE FITOPATÓGENOS

Mayra Fontes Furlan, Paula Feliciano de Lima, Fabiana A. L. Ribeiro,
Sérgio Florentino Pascholati, Fabio Augusto

*Instituto de Química, Universidade de Campinas -
Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo
mayra.furlan@iqm.unicamp.br*

A visualização e interpretação de eventos biológicos tem-se beneficiado dos avanços na metabolômica, principalmente nos avanços na instrumentação analítica com vistas a concepção de instrumentos e técnicas de maior sensibilidade, seletividade e especificidade. É neste contexto que a cromatografia gasosa bidimensional abrangente (GC×GC) se insere viabilizando a separação de vários componentes voláteis e semivoláteis de uma amostra, identificando e quantificando um grande número de metabólitos em matrizes biológicas complexas. Neste sentido, a combinação de métodos analíticos de análise, avaliação estatística e interpretação dos dados a partir de um ponto de vista biológico vêm propiciando o avanço de poderosas abordagens que conduzem ao exame de variação no perfil metabólico total. Neste trabalho, estão sendo avaliados os perfis metabólicos voláteis de fungos com potencial para controle biológico com vistas para sua utilização como biofungicidas. Até o momento, a fração metabólica volátil de *Memnoniella* sp foi avaliada através de GCxGC-qMS apresentando ampla variabilidade e diversidade de metabólitos voláteis. A identificação tentativa revelou que, dentre os metabólitos identificados, 44% hidrocarbonetos (dos quais 36% são sesquiterpenos), 25% álcoois, 10% ésteres, 10% cetonas, 6% éteres, 3% aldeídos e 2% de aminas. Como a quantidade de informação contida nos cromatogramas gerados pela técnica GCxGC-qMS foi complexa a análise e interpretação dos dados empregando ferramentas quimiométricas foram necessárias, de maneira a evidenciar mudanças sutis no perfil metabólico em estudo. Assim, foram obtidos gráficos das razões de Fisher para a fração volátil de *Memnoniella* sp permitindo a aquisição somente dos compostos voláteis referentes ao metabolismo do fungo após sete dias de análise. A partir destes gráficos foi possível ainda determinar a cinética de produção de metabólitos voláteis do fungo, bem como o dia de maior variabilidade e diversidade de compostos emitidos pela espécie através da utilização de Análise de Componentes Principais Multimodo(MPCA). Os resultados evidenciaram que a maior diversidade de metabólitos pode ser obtida após quatro dias de crescimento de *Memnoniella* sp em meio batata-dextrose-ágar (BDA) sendo possível desta forma identificar os compostos desta fração nos cromatogramas recuperados pelos gráficos de Fisher, reduzindo o tempo de processamento dos dados gerados, aumentando a confiabilidade do processo de identificação dos metabólitos. A aplicação de ambas estratégias para aquisição e identificação da fração volátil oriunda do metabolismo de *Memnoniella* sp apresentou-se como promissora no tratamento das informações geradas através de GCxGC-qMS.

Agradecimentos: Fapesp, CNPq e Capes.



ESTUDO DE PARÂMETROS ANALÍTICOS PARA QUANTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS-TRAÇO DE PETRÓLEO POR GC×GC-TOFMS

Vinicius Barreto Pereira^{1*}, Bárbara M. F. Ávila¹, Alexandre O. Gomes², Débora A. Azevedo¹

¹Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Química, LAGOA-LADETEC, Rio de Janeiro, 21941-909

²CENPES/PDEDS/TAP, Petrobras, Rio de Janeiro

vinicius3arreto@gmail.com

Compostos organosulfurados são componentes minoritários em amostras de petróleo e derivados, e são altamente indesejáveis, porque aumentam a estabilidade das emulsões, contaminam catalisadores de processos do refino e determinam cor e cheiro de produtos finais. Devido à dificuldade da determinação destes compostos em petróleo, a indústria utiliza o teor total de enxofre, um método não específico, que não permite a diferenciação entre as classes de compostos. A cromatografia gasosa bidimensional abrangente é uma técnica que permite maior poder de separação de amostras complexas, resolvendo coeluições que a cromatografia gasosa unidimensional não é capaz de resolver. É uma técnica constituída por dois mecanismos de separação independentes, gerando maior sensibilidade e resolução, que quando acoplados a espectrometria de massas por tempo de voo é capaz de desvendar os analitos presentes na amostra de forma revolucionária. Com efeito, a técnica GC×GC-TOFMS tornou-se imprescindível na determinação de compostos-traço em amostras de petróleo, e no caso deste estudo, compostos orgânicos sulfurados. Neste trabalho, avaliou-se parâmetros analíticos como seletividade, linearidade, limites de detecção (LD) e quantificação (LQ), visando análises quantitativas de compostos sulfurados em petróleo a nível de traço empregando-se cromatografia gasosa abrangente acoplada a espectrometria de massas por tempo de voo. Para tanto, foram construídas curvas analíticas com padrões autênticos de diferentes classes funcionais (sulfetos, dissulfetos, cíclicos saturados e aromáticos). Obteve-se valores de LQ entre 0,018 e 1,02 ng/μL e coeficientes de correlação superiores a 0,99 utilizando uma faixa dinâmica de 0,05 a 10,00 ng/μL. Tiofeno perdeuterado foi utilizado como padrão interno. A repetibilidade foi avaliada com três níveis de concentração em triplicata, obtendo-se desvios-padrão relativos inferiores a 10%, conferindo confiabilidade quanto a identificação e quantificação em amostras reais. A fortificação de amostra real confirmou a seletividade do método pela ausência de coeluições na região onde os compostos sulfurados eluem. Foi possível avaliar o formato gaussiano dos picos destes analitos nas amostras analisadas, obtendo resultados através de observação visual e cálculo de simetria de pico. A análise de fortificação confirmou a aplicabilidade do método quanto à análise de compostos a nível de traço sem tratamento prévio da amostra, sendo possível realizar a identificação destes compostos com eficiência. A GC×GC-TOFMS se mostrou eficaz para detectar e quantificar analitos-traço em uma matriz complexa como petróleo com precisão e exatidão, sem preparo prévio, o que é de grande relevância analítica, tendo em vista a volatilidade de alguns compostos sulfurados.

Agradecimentos: Petrobras, FUJB, CNPq, Capes e FAPERJ.

CARACTERIZAÇÃO DE BIO-ÓLEOS DE PIRÓLISE CATALÍTICA POR CROMATOGRAFIA BIDIMENSIONAL ABRANGENTE

Nathalia S. Tessarolo^{1*}, Alessandro Casilli¹, Andrea Pinho², Débora A. Azevedo^{1*}

¹Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Química, Rio de Janeiro, Brasil

²PETROBRAS/CENPES/Conversão de Biomassa, Rio de Janeiro, Brasil

nathaliatessarolo@yahoo.com.br

A biomassa é uma fonte de energia renovável com grande potencial. Sua pirólise rápida gera o bio-óleo, que apresenta composição química muito complexa em compostos oxigenados, variando em função da origem da biomassa e das condições utilizadas durante a pirólise. Dessa forma, uma técnica analítica poderosa como a cromatografia gasosa bidimensional abrangente (GC×GC) é fundamental no aperfeiçoamento das condições de pirólise que envolvem a conversão de biomassa, no intuito de se avaliar a variação causada na composição química em função das diversas condições do processo, sugerindo uma utilização adequada do combustível produzido. No presente estudo, oito amostras de bio-óleo obtidas a partir de diferentes condições de pirólise de bagaço de cana e de madeira, foram analisadas por GC×GC acoplada à espectrometria de massas por tempo de voo (GC×GC-TOFMS). As amostras, fornecidas pelo Cenpes/Petrobras, foram obtidas a partir de diferentes temperaturas de pirólise (450 °C, 500 °C e 550 °C), sendo que, em alguns casos, foi utilizado um catalisador ao invés da sílica utilizada na pirólise de biomassa convencional. A alta resolução cromatográfica, o poder de separação e a sensibilidade da GC×GC-TOFMS permitiram a separação e identificação de compostos individuais que normalmente coeluem em análises de GC unidimensional. Além disso, foi possível a realização de análises semi-quantitativas através de uma normalização externa, tornando possível a comparação de diferentes amostras de bio-óleo. Algumas classes específicas de compostos foram identificadas, como fenóis, benzenodióis, ácidos, hidrocarbonetos aromáticos, parafinas e alquenos. Na classe dos ácidos e fenóis, destacam-se o ácido acético e o fenol como componentes majoritários. Comparando-se as amostras obtidas com o catalisador e aquelas obtidas com sílica, verificou-se que a classe dos hidrocarbonetos aromáticos apresentou o maior percentual relativo nas amostras com o catalisador, sendo este percentual na faixa de 15-25 %, enquanto que nas amostras com sílica, esta classe possui área relativa inferior a 5 %. Através da utilização de uma técnica que possui maior capacidade de pico é obtida uma maior sensibilidade, levando à identificação de compostos presentes em baixa concentração, como por exemplo, as classes de parafinas e alquenos, encontradas com valores de área relativa menores ou iguais a 0,1 %. Dessa forma, a GC×GC-TOFMS mostrou-se uma poderosa ferramenta que pode contribuir para a avaliação detalhada na variação da composição química destes óleos obtidos a partir de pirólise catalítica, sendo de grande importância em seus coprocessamentos, no objetivo de se alcançar uma segunda geração de biocombustíveis.

Agradecimentos: CNPq, CAPES e Cenpes/Petrobras.



GC×GC-TOFMS NA INVESTIGAÇÃO DE NOVOS COMPOSTOS EM ÓLEOS BRASILEIROS

Jaakko Laakia, Bruno Q. Araújo, Alessandro Casilli, Maria Regina B. Loureiro,
Débora A. Azevedo, Francisco R. Aquino Neto

*Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Química, LAGOA-LADETEC, RJ
laakia@iq.ufrj.br*

Historicamente, as análises de misturas complexas como petróleo bruto, envolvem diferentes técnicas analíticas, dentre as quais a principal é a cromatografia gasosa (GC) acoplada à espectrometria de massas (MS). Nos últimos anos, devido à falta de informações relacionadas com possíveis co-eluições cromatográficas e dados espectrais limitados obtidos por varredura (SCAN), monitoramento seletivo de íons (SIM) e monitoramento de reações múltiplas (MRM), têm sido desenvolvidas técnicas de análise capaz de separar os componentes de uma amostra complexa com máxima resolução, como a cromatografia gasosa bidimensional abrangente (GCxGC). Neste trabalho, a cromatografia gasosa bidimensional abrangente acoplada à espectrometria de massas por tempo de voo (GC×GC-TOFMS) foi utilizada para investigar a composição de óleos brasileiros, a partir da combinação dos tempo de retenção cromatográfico na 1ª e 2ª dimensões com os dados dos espectros de massas. A fração de hidrocarbonetos saturados obtida a partir do óleo bruto, foi separada em n-alcenos e ramificados/cíclicos por aduto de ureia. O sistema GC×GC-TOFMS utilizado foi Pegasus 4D (Leco) equipado com cromatógrafo a gás Agilent Tech. mod. 6890 com coluna DB-5 na 1D e coluna BPX-50 na 2D em um forno secundário, um modulador criogênico de quatro jatos e dois estágios e um espectrômetro de massas com analisador por tempo de voo (TOFMS) mod. Pegasus III (Leco). A análise por GC×GC-TOFMS da fração de hidrocarbonetos permitiu a caracterização dos biomarcadores, que são de grande importância para a geoquímica de petróleo. Em todos os óleos, terpanos tricíclicos, tetracíclicos e pentacíclicos e os esteranos mostraram diferentes tempos de eluição na 2ª coluna, o que resultou na separação cromatográfica por “tipo de grupo”. Desta forma, foi possível, por exemplo, detectar em uma amostra de óleo do Recôncavo, cinco biomarcadores com estruturas inéditas que apresentam “efeito telhado” no cromatograma bidimensional. O segundo composto na sequência coeluiu com o C23 terpano tricíclico na 1D, mas foi separado na 2D, o que resultou em um espectro de massas sem interferência, ao contrário do que é obtido pela utilização de GC/MS. Na segunda dimensão, o primeiro composto da sequência foi tentativamente identificado como C23 nor-esteranos com anel A contendo cinco átomos de carbono, e o último componente dessa série apresenta tempo de retenção em 2D similar ao terpano tetracíclico em C24, o que é indicativo do mesmo tipo de esqueleto. Com base nas informações fornecidas pela cromatografia bidimensional e pelos respectivos espectros de massas (íon molecular em m/z 316 e íons diagnósticos em m/z 191 e m/z 203), foram sugeridas estruturas para os cinco compostos, o que demonstra a potencialidade da técnica para a elucidação da estrutura de compostos desconhecidos, presentes em misturas complexas.

Agradecimentos: À Petrobras, FUJB, CNPq.

PTV-GC×GC-TOFMS: UMA PROMISSORA TÉCNICA PARA ANÁLISE DE BIOMARCADORES PESADOS EM ÓLEOS BRASILEIROS

Paula L. Azevedo, Alessandro Casilli, Débora A. Azevedo

Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Química, Rio de Janeiro, Brasil
paulalopes@iq.ufrj.br

Os biomarcadores estão entre os componentes mais importantes da geoquímica de petróleo. São amplamente utilizados como indicadores de origem de óleos e rochas geradoras, na determinação da maturação térmica de óleos e estudos sobre a biodegradação do petróleo. A cromatografia gasosa bidimensional abrangente (GC×GC) é uma técnica multidimensional que tem mostrado grande potencial na investigação de misturas complexas, como o petróleo. Isto se deve ao aumento de resolução obtido através das duas separações cromatográficas e ao sistema de focalização do modulador. Nesta técnica duas colunas são acopladas em série e a separação do analito depende do tipo de interação com a fase estacionária. Para a detecção, normalmente, é acoplado um espectrômetro de massas por tempo de voo, que fornece informações a respeito da estrutura química, tornando a técnica uma poderosa ferramenta na identificação individual dos compostos. A GC×GC-TOFMS é usualmente empregada na detecção e identificação de biomarcadores combinada com injeções do tipo split/splitless. Neste modo de injeção há um efeito de discriminação dos compostos de alto ponto de ebulição, pois na análise de uma mistura com múltiplos analitos dentro de um injetor aquecido os compostos passam para a fase gás em diferentes taxas. Isso significa que uma quantidade desproporcional de amostra será eliminada pela divisão de fluxo. Na tentativa de solucionar este efeito pode-se utilizar injeções na coluna à frio (cold on column) ou por vaporização com programação de temperatura (PTV). O objetivo deste trabalho foi investigar a eficiência do injetor PTV na análise da fração de hidrocarbonetos cíclicos e ramificados por GC×GC-TOFMS, na tentativa de detectar e identificar biomarcadores de petróleo, com mais de 35 átomos de carbono. As amostras foram fracionadas por cromatografia líquida em hidrocarbonetos saturados, compostos aromáticos e polares. A fração de hidrocarbonetos saturados foi submetida ao método de aduto de uréia para isolar os n-alcenos dos hidrocarbonetos cíclicos e ramificados. As frações foram analisadas por um sistema Pegasus 4D (Leco) em configuração PTV-GC×GC-TOFMS. Na 1D foi utilizada uma coluna não polar (DB-5HT) e na 2D uma coluna relativamente polar (MEGA-17HT FAST). Os analitos foram analisados através de cromatogramas de íons extraídos. Com o sistema PTV-GC×GC-TOFMS, foram detectados e identificados os alcanos lineares até C45 e a série homóloga dos hopanos de H27 a H37. Normalmente os hopanos são detectados de H27 a H35, sendo os H36 e H37 raramente detectados em óleos. A informação fornecida pelo MS, junto com a posição relativa na série homóloga, possibilitou uma identificação confiável dos H36 e H37. A investigação destes biomarcadores por PTV, associada a separação por GC×GC e a detecção por TOFMS permitiram a elucidação de biomarcadores de alta massa molecular.

Agradecimentos: FUJB, CNPq, Capes e Petrobras.



SEPARAÇÃO DE COMPOSTOS SULFURADOS DE PETRÓLEO UTILIZANDO LEC-GC×GC/TOFMS EMPREGANDO NOVA FASE SÓLIDA

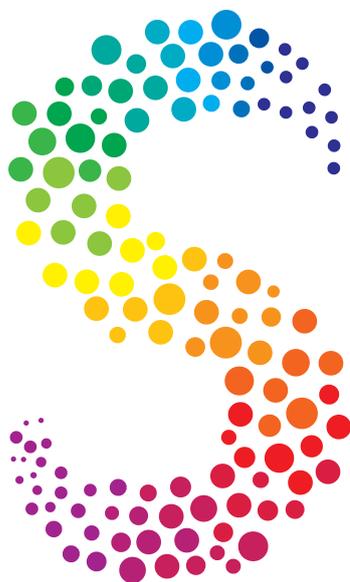
TR Bjerk, EV Benvenuti, EB Caramão, CA Zini

Programa de Pós-graduação em Ciência dos Materiais - UFRGS; Instituto de Química - UFRGS

thiagobjerk@gmail.com; claudialcaraz@gmail.com

O petróleo é a fonte energética não renovável mais importante para a economia mundial e o conhecimento de sua composição química proporciona um melhor entendimento deste recurso energético e melhores alternativas para seu uso. Os compostos presentes nestas matrizes são majoritariamente hidrocarbonetos e em menor proporção nitrogenados, oxigenados, sulfurados e metais. Dentre os compostos minoritários, os compostos orgânicos sulfurados (OSC, do inglês organic sulfur compounds) se destacam por serem altamente danosos ao meio ambiente, além de causarem problemas em processos industriais. Separação, identificação e quantificação de OSC em petróleo e derivados implicam em grande dificuldade analítica, devido principalmente à complexidade destas matrizes. Embora o uso da cromatografia gasosa bidimensional abrangente acoplada à espectrometria de massas por tempo de voo (GC×GC/TOFMS, do inglês “comprehensive two-dimensional gas chromatography with time-of-flight mass spectrometric detector”) proporcione maior resolução, entre outras vantagens, ainda é necessário tratamento prévio das amostras para redução da sua complexidade. Uma das alternativas para o tratamento destas amostras é o emprego de fases adsorventes, utilizando-se cromatografia por troca de ligante (LEC, do inglês, “ligand exchange chromatography”). Na LEC, ocorre a formação de complexos entre o metal e os compostos sulfurados, sendo que os materiais híbridos se destacam como fases sólidas portadores de propriedades únicas. O Pd²⁺ é o metal mais utilizado devido a sua maior seletividade (fase Pd(II)-mercaptopropil-trimetóxi-silano-sílica gel, Pd(II)-MPSG], entretanto apresenta alto custo. Este trabalho buscou avaliar a eficiência do emprego de um novo material híbrido a base de prata [Ag(I)-MPSG] na LEC, seguido de análise da fração aromática eluída deste material por GC×GC/TOFMS. Esta avaliação foi feita comparando-se os resultados obtidos com Ag(I)-MPSG e a fase convencional de Pd²⁺, [+Pd(II)-MPSG], a fim de verificar-se a possibilidade de substituição do Pd²⁺ por um metal de menor custo. Foram considerados OSC aqueles que apresentaram similaridade espectral acima de 70% com os espectros de massas da biblioteca e relação sinal/ruído >3. O emprego das fases estacionárias contendo Pd²⁺ e Ag⁺ resultou na separação de seis classes do OSC para ambas, totalizando 168 e 233 compostos sulfurados, respectivamente. Sendo assim, conclui-se que a nova fase [Ag(I)-MPSG] mostra-se promissora para substituição da fase [Pd(II)-MPSG] comumente empregada. Além disso, o emprego da GC×GC/TOFMS aliada ao uso prévio de LEC resulta em alta eficiência de separação e identificação de OSC em petróleo.

Agradecimentos: Ao CNPq, Petrobras, PPGCiMat-UFRGS, Instituto de Química-UFRGS, Lab.de Oleoquímica e Química Analítica e Laboratorio de Sólidos de Superfície.



SEÇÃO H



DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE AMINOGLICOSÍDEOS EM CARNE BOVINA POR LC-MS/MS

Andréia Peraro-Nascimento^{*1}, Carlos Eduardo D. Nazário², Fernando M. Lanças²

^{*1}Universidade Federal de Juiz de Fora- Campus Avançado de Governador Valadares

²Laboratório de Cromatografia - IQSC- USP- São Carlos-SP

andrea.peraro@ufff.edu.br

A segurança alimentar é um assunto que merece destaque e atenção, pois envolve aspectos relacionados à saúde pública e competitividade dos países exportadores no mercado internacional. Os possíveis riscos à saúde humana decorrentes do emprego de medicamentos veterinários em animais produtores de alimentos podem estar associados aos resíduos dos mesmos em níveis acima dos limites máximos recomendados. Dentre os medicamentos utilizados em gado bovino de corte estão os antibióticos, suas ações tem aspectos profiláticos e de tratamento contra infecções bacterianas, porém o mau uso desses medicamentos pode estar relacionado ao aparecimento de resistência bacteriana. O aumento do uso de técnicas altamente seletivas como a espectrometria de massas (MS), espectrometria de massas em série (MS-MS) e espectrometria de massa em tempo de voo (ToF), acopladas a cromatografia tem possibilitado o desenvolvimento de metodologias para a determinação de multiresíduos e traços de contaminantes em alimentos. A utilização de técnicas analíticas validadas para determinação de resíduos de medicamentos veterinários em carne bovina, melhora a qualidade desta classe de alimentos, traz segurança ao consumidor e agrega valor ao produto. O objetivo deste trabalho foi a determinação de resíduos de medicamentos antibióticos da classe dos aminoglicosídeos em matriz rim bovino por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a espectrometria de massas em tandem(LC-MS/MS). Para a validação do método seguiu-se as diretrizes da RDC 27/2012 da ANVISA(Agência Nacional de Vigilância Sanitária). Os fármacos avaliados foram estreptomicina(ESTR), dihidroestreptomicina(DESTRO) e espectinomicina(ESP), utilizando-se gentamicina como padrão interno. No preparo da amostra utilizou-se 1 g de rim bovino, para a extração utilizou-se uma mistura de ácido trifluoroacético e acetonitrila. As análises cromatográficas foram realizadas utilizando-se um sistema Acquity UPLC - Xevo TQ MS(Waters), equipado com coluna Waters BEH C18(50 mm X 2,1 mm X 1,7 µm), a fase móvel utilizada foi composta por uma mistura de metanol, acetonitrila, 0,1% de ácido fórmico e 4mM de ácido pentafluoropropiônico. O tempo de análise foi de 4 minutos. A fonte de electrospray operou no modo positivo, detecção no modo MRM, voltagem do capilar 2,5kV, temperatura da fonte 550°C. A faixa de linearidade foi de 25-2000µg/kg(DESTRO); 50-2000µg/kg(ESTR e ESP), recuperação 92%(DESTRO), 78%(ESTR) e 85% (ESP). O coeficiente de variação no efeito matriz foi menor que 12%. O método apresentou seletividade, precisão, exatidão e estabilidade de acordo com a RDC27(ANVISA). Portanto o método pode ser aplicado para a determinação de resíduos de aminoglicosídeos em amostras de carne bovina.

Agradecimentos ao Laboratório de Cromatografia do IQSC-USP-São Carlos

DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE TETRACICLINAS EM CARNE BOVINA POR LC-MS/MS

Andréia Peraro-Nascimento^{*1}, Carlos Eduardo D. Nazário², Fernando M. Lanças²

^{*1}Universidade Federal de Juiz de Fora- Campus Avançado de Governador Valadares

²Laboratório de Cromatografia - IQSC- USP- São Carlos-SP

andrea.peraro@uff.edu.br

Antibióticos são compostos naturais ou sintéticos capazes de inibir o crescimento ou causar a morte de fungos ou bactérias. Podem ser classificados como bactericidas, quando causam a morte da bactéria ou bacteriostáticos, quando inibem o crescimento microbiano. Os antibióticos tem sido utilizados em grandes quantidades na pecuária e parte das moléculas que não são totalmente metabolizadas no organismo animal são encontradas na forma de resíduos em amostras de solo, água superficial e subterrânea. Esses resíduos no ambiente podem favorecer a resistência de microorganismos aos fármacos antibióticos e ocasionar toxicidade a alguns organismos vivos. Há uma eminente preocupação com surgimento de muitos casos de bactérias resistentes, dentre os motivos, muitos tem estudado a relação entre o uso de medicamentos veterinários em animais produtores de alimento para seres humanos. É necessário que se haja uma conscientização para uma utilização mais prudente dessa classe de medicamentos, desde o produtor, veterinário, indústria farmacêutica, distribuidora de medicamentos e grandes distribuidores de alimentos e também um trabalho de cooperação entre a medicina humana e veterinária. Dentre as classes de anitbióticos utilizadas em gado de corte estão o grupo das tetraciclinas. O objetivo deste trabalho foi desenvolver e validar um método de determinação de resíduos de antibióticos do grupo das tetraciclinas em carne bovina através de LC-MS/MS. Os fármacos avaliados foram tetraciclina(TC), clortetraciclina(CTC), doxiciclina(DXC), oxitetraciclina(OXT) utilizando-se demeclociclina como padrão interno. No preparo da amostra utilizou-se 1 g de rim bovino, para a extração utilizou-se uma mistura de acetonitrila e ácido fórmico. As análises cromatográficas foram realizadas utilizando-se um sistema Acquity UPLC - Xevo TQ MS(Waters), equipado com coluna Waters BEH C18(50 mm X 2,1 mm X 1,7 µm), a fase móvel utilizada foi composta por uma mistura de água ultrapura, acetonitrila e 0,1% de ácido fórmico. A validação do método seguiu os parâmetros da RDC 27 da Anvisa. O método apresentou linearidade, seletividade, precisão, exatidão e recuperação adequados para a determinação de tetraciclinas. A faixa de linearidade foi de 1-50 ng/g(CTC;TC;DXC e OXT). O coeficiente de variação no efeito matriz foi menor que 14%. O método foi aplicado na análise de 10 amostras de rim bovino adquiridas no comércio local e nenhuma das amostras apresentou resíduos de tetraciclinas.

Agradecimentos: Ao Laboratório de Cromatografia do IQSC-USP-São Carlos.



DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE PESTICIDAS EM SUCOS DE UVA INTEGRAIS BRASILEIROS USANDO CG-EM-MSI

Andréa A.R. Alves*, Aline S. Rodrigues, Elisabete B. Paula Barros,
Thaís M. Uekane, Humberto R. Bizzo e Claudia M. Rezende

*Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro - RJ - Brasil e
Embrapa Agroindústria de Alimentos, CEP 23020-470, Guaratiba - RJ - Brasil*

**aaralves@hotmail.com*

A produção do suco de uva integral brasileiro vem crescendo numa taxa de 30 % ao ano, e seu consumo também, tudo isso graças aos investimentos na melhoria das cultivares e do manejo na elaboração destes sucos. No entanto, o setor ainda carece de parâmetros de qualidade e segurança para se estabelecer no mercado externo e apresentar-se mais atrativo frente aos sucos de uva estrangeiros. Em contrapartida, o Brasil é um dos maiores consumidores de pesticidas do mundo, cerca de 2,5 bilhões de dólares ao ano, sendo as uvas, uma das frutas que mais correm risco de exposição a estes contaminantes. As uvas e seus sucos, para serem exportados, devem obedecer às normas rígidas de segurança alimentar do Codex Alimentarius Internacional, que definem os limites máximos permitidos (LMRs) de resíduos de pesticidas autorizados numa cultura ou produto. O objetivo deste trabalho foi desenvolver e validar um método analítico para verificar resíduos de pesticidas (organoclorados, organofosforados e fungicidas) em sucos de uva integrais brasileiros comerciais e experimentais. A análise foi realizada usando cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas em modo seletivo de íons (CG-EM-MSI) e foi utilizada a extração líquido-líquido (ELL) para o cleanup das amostras e a extração em fase sólida (EFS), com cartucho Florisil, para a pré-concentração dos pesticidas nos sucos de uva. A utilização da ELL aliada à EFS Florisil se mostrou eficiente e possibilitou as análises por CG-EM-MSI. Na validação do método para determinação dos resíduos de pesticidas, obteve-se limites de detecção e quantificação variando de 1,20 - 6,25 mg/L e 3,75 - 9,47 mg/L, respectivamente. O uso do CG-EM-MSI mostrou-se ideal para os analitos estudados, pois aliou seletividade e sensibilidade, tornando o método passível de ser validado, com valores de precisão, com desvio padrão relativo (DPR) abaixo de 4,3 % e de exatidão, com recuperações entre 84,0 a 99,7 %. O método validado foi aplicado em noventa e nove sucos de uva integrais brasileiros comerciais e experimentais, e foram encontrados resíduos de pesticidas em 32 sucos. Todos os resíduos encontrados estavam ou com valores acima do LMR permitidos pelo Codex Alimentarius ou o seu uso não era permitido na cultura de uva. Destes resíduos, os mais preocupantes e com altos valores estavam no suco SP_G1 com 60,17 mg/L de dieldrin; no suco AL_G3 com 34,52 mg/L de quintozeno; nos sucos DC_G3 e DC_G2 com 34,38 mg/L e 21,38 mg/L de dicofol respectivamente; e no suco CL_G1 com resíduos de 13,20 mg/L de aldrin, 34,00 mg/L de dicofol e 21,66 mg/L de quintozeno.

Artigo disponível: <http://link.springer.com/article/10.1007/s12161-014-9823-9>.

Rizzon, L.A., Miele, A. Ciência e Tecnologia de Alimentos. 32, 1, 93, jan.-mar., 2012.

Spadotto, C.A., Gomes, M.A.F. Agrotóxicos no Brasil 2005 - 2011. http://www.agencia.cnpia.embrapa.br/gestor/agricultura_e_meio_ambiente.html.

Agradecimentos: Os autores agradecem a CAPES, ao CNPQ, à FAPERJ, à Embrapa Agroindústria de Alimentos, e à Pós Graduação em Química - UFRJ.

VARIABILIDADE DO GOSSIPOL LIVRE

Romero, A.C.; Abdalla, A.L.; Louvandini, H.; Nazato, C.

¹Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, USP.

²NAPTISA, Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São, USP
acromero@cena.usp.br

A variabilidade de um analíto em espécies vegetais depende de fatores como práticas agrícolas, variedade, local de cultivo, entre outros, e pode proporcionar erros em sua quantificação dependendo do preparo da amostra analítica. A variabilidade analítica expressa as variações nos resultados proporcionadas pelas etapas da análise, compreendidas pela amostragem, preparo da amostra e análise química. Dentre os componentes da variabilidade analítica, a amostragem (incluindo o preparo da amostra analítica) é fundamental para que os resultados obtidos sejam representativos. O gossipol é um composto tóxico presente em caroço de algodão, cuja forma livre (GL) é biodisponível e predominante no caroço íntegro e presente em menor quantidade em tortas e farelos de caroço de algodão. O GL possui características, como a complexação protéica e a distribuição de glândulas de armazenamento, as quais favorecem uma alta variabilidade e, conseqüentemente, uma maior inexatidão analítica. Este estudo visa analisar a variabilidade na distribuição do GL em caroço de algodão e verificar o tamanho da amostra laboratorial adequado. Foram utilizados três amostras de caroços de algodão (A, B, C), das quais foram avaliados individualmente 75, 20 e 23 caroços, respectivamente. A metodologia para extração descrita por Wang (1987), com a maceração dos caroços em acetona (16 horas) foi utilizada. A quantificação por HPLC foi realizada com coluna Zorbax C18 (250 x 4,6 mm, i.d. 5 µm), eluição gradiente (80:20; metanol-0,1% ácido ortofosfórico:água, 70:30 v/v, e clorofórmio), fluxo de 1,1 ml/min. e detecção a 254 nm (PDA-UV). O teor médio de GL foi de 0,74 (dp = 0,21), 1,01 (dp = 1,22) e 0,79% (dp = 0,59) o desvio padrão relativo (DPr), de 28,71, 120,65 e 74,13 (para A, B, C, respectivamente). O peso médio dos caroços foi 0,08 (A), 0,04 (B) e 0,06 (C), enquanto a soma do peso dos caroços de cada amostra foi de 5,89 (A), 0,91 (B) e 1,07 g (C). A análise de correlação Spearman não demonstrou associação entre o peso do caroço e o teor de GL ($r = 0,48, 0,05$ e $0,11$, A, B e C, respectivamente). A distribuição do GL apresentou maior concentração de resultados na faixa entre 0,509 - 0,797% ($n = 42$, A) e entre 0,638 - 0,994 ($n = 8$, em B e $n = 9$, em C). Usando como referência de variabilidade do GL o menor DPr obtido em A (28,71), é possível estimar que o peso de amostra necessário para um erro de amostragem menor que 0,5%, a 95% de confiança, seria de 9,14 g, aplicando a fórmula para obter o número de amostras ($n = (\text{fator de Student} \times \text{desvio padrão estimado para as amostras} / \text{inexatidão})^2$), e multiplicando o resultado obtido pelo peso médio dos caroços da amostra (0,08 g). Assim, a moagem úmida de 10 g de amostra em acetona poderia reduzir o erro analítico proporcionado pela complexação do GL que ocorre com a moagem seca de 50 g de amostra, conforme recomendação da AOCS para preparo das amostras laboratorial e analítica.

Agradecimentos: Processo nº 2013/10630-1, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP).



HPAS EM GRÃOS DE ARROZ BENEFICIADOS COM DIFERENTES PROCESSOS E SECOS COM DIFERENTES COMBUSTÍVEIS

Sergiane Souza Caldas¹, Jean Lucas de O. Arias¹, Caroline Rombaldi¹,
Eliana Badiale Furlong², Ednei Gilberto Primel¹

¹LACOM; ²LAMCA; Escola de Química e Alimentos - EQA,
Universidade Federal do Rio Grande- FURG, Rio Grande, Brasil
sergianecaldas@furg.br

Grãos secos sob diferentes condições podem estar contaminados com Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPAs) resultantes de resíduos gerados pela queima incompleta do combustível. No entanto, o beneficiamento convencional pode remover as camadas externas fazendo com que os níveis dos contaminantes sejam diminuídos nas porções comestíveis do grão, ao passo que o processo de parboilização pode promover a migração destes compostos para o interior do grão. O objetivo deste trabalho foi avaliar a ocorrência de HPAs no grão e no farelo de arroz secos com diferentes combustíveis e beneficiados pelo processo convencional e parboilizado. As amostras de arroz, submetidas a diferentes condições de tratamento, foram preparadas no Instituto Rio Grandense do Arroz, sendo os combustíveis empregados na secagem, lenha e GLP. A extração dos HPAs foi realizada por QuEChERS e a determinação por Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (GC-MS). O método foi aplicado nas amostras de arroz nas frações endosperma e farelo. Os resultados demonstraram que às amostras de endosperma e farelo que não passaram pelo processo de parboilização, tanto seco com GLP e seco com lenha, apresentaram níveis semelhantes do composto naftaleno e sempre inferiores a $0,001 \mu\text{g kg}^{-1}$. Já as amostras submetidas ao processo de parboilização, apresentaram níveis de naftaleno acima de $0,001 \mu\text{g kg}^{-1}$, e as amostras secas com lenha demonstraram valores sempre superiores as amostras secas com GLP. Para as amostras de farelo foi detectado um número maior de HPAs do que no endosperma. Nas amostras de fração farelo, proveniente da secagem com GLP, foi verificado uma menor contaminação do que nos farelos de grãos secos com lenha. Com relação ao farelo proveniente do processo de parboilização, quando comparado com o farelo que não foi submetido a esse processo os níveis de contaminação também foram maiores. Tem sido demonstrado que durante o processo de parboilização pode ocorrer a migração de compostos contaminantes presentes na casca para o interior do grão. Possivelmente isto ocorra também com os HPAs, justificando que se encontrem geralmente em maior concentração em frações de amostras submetidas a parboilização. Entre os dois processos (lenha e GLP), as amostras provenientes da secagem com lenha apresentaram concentração mais elevada de HPAs, bem como uma maior frequência de detecção. Vale ressaltar que a exposição aos HPAs pode ser proveniente do meio ambiente, além das origens antropogênicas. Em geral, pode-se considerar que o endosperma amiláceo obtido pelo processo convencional oferece pouco risco de contaminação aguda durante o seu consumo, mas que as condições de manejo precisam ser melhor estudadas visto que influenciaram o perfil de HPAs.

Agradecimentos: CAPES, CNPq, FAPERGS, IRGA, FURG.

COMPOSIÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS EM FÍGADO DE TILÁPIA DO NILO CULTIVADA NO BREJO PARAIBANO

Alison B B. de Sousa¹, Neiva M. de Almeida², Pedro G. A. Nunes²,
Oscar O. dos Santos Júnior³, Jesuí V. Visentainer³

¹IFPE/Afogados da Ingazeira, PE, CEP 56800-000;

²DGTA/CCHSA/UFPB Bananeiras, PB, CEP 58220-000; ³DQ/UEM, Maringá, PR CEP 87020-800

alison.borges@afogados.ifpe.edu.br

O fígado de tilápia é caracterizado como um dos resíduos do processamento de filé de peixe. Estes resíduos precisam ser melhor estudados tanto na ciência, quanto na tecnologia de alimentos para serem aproveitados como subprodutos. Dentro deste contexto, objetivou-se neste estudo determinar a composição de ácidos graxos dos lipídios totais em fígado de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), cultivada em sistema intensivo, nos municípios de Bananeiras e Borborema, Paraíba, Brasil. As tilápias foram capturadas em três pisciculturas distintas em cada município, perfazendo um total de 60 exemplares. Os peixes foram abatidos, eviscerados e seu fígado liofilizado e armazenado sob congelamento a -18° C até o momento das análises. A extração dos lipídios totais foi realizada de acordo com o método descrito por Bligh & Dyer (1959) e a análise de ácidos graxos realizada em cromatógrafo a gás Varian, modelo 3380, equipado com um detector de ionização de chama e coluna capilar de sílica fundida CP - 7420 (Select FAME). Para a análise estatística realizou-se um delineamento inteiramente casualizado, com seis repetições e análise de variância (ANOVA), a nível de 5% de probabilidade com as médias dos tratamentos comparadas pelo teste de Tukey. Foram encontrados 26 componentes no total, sendo oléico, palmítico, linoleico, esteárico e palmitoleico os majoritários em ordem decrescente de percentagem. Observou-se maior percentual de ácidos graxos saturados, mirístico, palmítico e esteárico nas amostras dos peixes cultivados em Borborema. A presença desses ácidos saturados pode ser derivada da dieta do peixe ou ter sido gerado pela síntese de novo (fonte de carbono não lipídica). O somatório de AGMI apresentou diferença significativa ($p < 0,05$) entre os locais de captura, com 46,01% para peixes cultivados em Borborema e 42,25% em amostras provenientes de Bananeiras. Os resultados do Σ AGPI também apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) entre as amostras. Dentre os grupos de ácidos graxos o que apresentou maior somatório foi o de monoinsaturados (AGMI) devido ao teor do ácido graxo oleico. O total de ácidos graxos ômega-6 apresentou diferença significativa ($p < 0,05$) com percentuais de 13,21% para as amostras de fígado de tilápia cultivada em Bananeiras e 9,15% para as de Borborema. O somatório de ácidos graxos da série ômega-3 variou de 1,85 a 1,33%, respectivamente nas mesmas amostras descritas para a série ômega-6, não apresentando diferença significativa ($p < 0,05$). Este estudo indicou que o fígado das tilápias cultivadas em sistema intensivo no Brejo Paraibano, por apresentarem conteúdo e composição de seus ácidos graxos, podem servir como alternativa para inserção destes na dieta humana. Sugere-se a utilização de novas tecnologias ou processos para o desenvolvimento de produtos com qualidades nutricionais e sensoriais favoráveis com este resíduo.

Agradecimentos: Os autores agradecem ao CNPq pelo auxílio financeiro à pesquisa e bolsa de mestrado.



AVALIAÇÃO DA ÁGUA-DE-COCO E ALBÚMEN SÓLIDO NA DETERMINAÇÃO DE AGROTÓXICOS POR QUECHERS E UHPLCMS/MS

J.A. Ferreira, J.F.Facco, T.M. Rizzetti, O.D. Prestes, R. Zanella,
V. Talamini, J. M. S. Ferreira, C. B. G. Bottoli*

**Instituto de Química, UNICAMP, Campinas, SP, Brasil*
Departamento de Química, UFSM, Santa Maria, RS, Brasil
EMBRAPA T. Costeiros, Aracaju, SE, Brasil
carlab@iqm.unicamp.br

Para milhões de pessoas que vivem em regiões litorâneas (tropicais e subtropicais), o coqueiro (*Cocos nucifera* L.) tem uma grande importância econômica, social e ambiental, sendo classificado como uma das plantas oleaginosas mais importantes do mundo e uma das principais frutíferas cultivadas. O produto com maior mercado do coqueiro é o fruto, também conhecido como coco, na forma de: a) a água-de-coco e b) albúmen sólido, na forma de: óleo-de-coco, leite-de-coco, creme-de-coco, coco ralado desidratado, com as opções de consumo que podem ser de forma in natura (frescos ou resfriados) e industrializada, como enlatados ou empacotados. O fruto é uma estratégia de proteção ecofisiológica da espécie, e em sua parte interna é formada a água-de-coco e a amêndoa para nutrir o embrião durante a germinação da semente. Contudo, a cultura do coqueiro está sujeita ao ataque de pragas e doenças que causam prejuízos à produção e afetam a qualidade dos frutos colhidos. A aplicação de agrotóxicos é ainda uma das práticas mais utilizadas para o controle de pragas. Portanto, a determinação de resíduos de agrotóxicos em água-de-coco e albúmen sólido é necessária para evitar riscos à saúde do consumidor. Por isso, desenvolveram-se duas metodologias para a determinação de 8 agrotóxicos para a água-de-coco (método A) e 9 agrotóxicos para o albúmen sólido (método B). Como estratégia foi desenvolvido um método para cada matriz devido às diferentes propriedades físico-químicas dos agrotóxicos, como log kow e pKa. Os métodos A e B foram desenvolvidos para a determinação de agrotóxicos e validados utilizando-se como técnica de extração QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged e Safe) acetato modificado e a técnica de análise a cromatografia líquida de ultra eficiência acoplada à espectrometria de massas sequencial (UHPLC-MS/MS). Para ambos os métodos, os valores de limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ) variaram entre 0,003 e 0,010 mg/kg, respectivamente. Todos os analitos apresentaram faixa linear dentro da faixa de concentração determinada ($r^2 \geq 0,99$). A exatidão mostrou que as medições estavam próximas do valor conhecido, através dos ensaios de recuperação em três níveis de concentração, obtendo-se resultados entre 70 e 120% para todos os compostos avaliados. A precisão foi avaliada pela repetitividade dos ensaios e certificada com valores abaixo de 20%. Portanto, os métodos mostraram-se eficientes para a análise de agrotóxicos aplicados na cocoicultura e foram avaliadas em amostras de três diferentes regiões do Brasil, como: Goianésia-Goiás, Campinas-São Paulo e Aracaju-Sergipe. Foi detectado apenas o carbofurano no albúmen sólido e na água-de-coco nas amostras de Aracaju-Sergipe, porém, não foi possível quantificá-lo, pois os resultados estavam abaixo do LQ dos métodos, garantindo a qualidade do fruto aos consumidores.

Agradecimentos: FAPESP, CNPq e INCT-Bioanalítica.

VALIDAÇÃO DE MÉTODO MULTIRRESÍDUO PARA DETERMINAÇÃO DE PESTICIDAS EM MEL POR LC-MS/MS

Patricia Tette¹, Christian Fernandes¹, Fabiano Oliveira², Elba Pereira²,
Gilsara Silva², Maria Beatriz de Abreu Glória¹

¹Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brazil,

²Lanagro, Pedro Leopoldo, MG, Brazil

mbeatriz@ufmg.br

O monitoramento de resíduos de pesticidas no mel auxilia na avaliação do potencial de risco destes produtos à saúde do consumidor e fornece informações sobre o uso de pesticidas nos campos de colheita e em suas vizinhanças (RISSATO et al., 2006). Assim, métodos analíticos empregando técnicas modernas de preparo de amostras para determinação de pesticidas necessitam ser desenvolvidos e otimizados para que possam ser utilizados rotineiramente na análise de mel (FERNANDEZ et al., 2002; BALAYIANNIS e BALAYIANNIS, 2008; BLASCO et al., 2011). Sendo assim, o objetivo desse estudo foi validar um método multirresíduo para determinação de resíduos de pesticidas em mel empregando QuEChERS modificado e LC-MS/MS. O método QuEChERS validado constou de 5 g de amostra, 10 mL de água, 10 mL de de acetonitrila:acetato de etila (70:30), 4 g de MgSO₄ e 1 g de acetato de sódio na partição líquido-líquido e 500 mg de PSA, 500 mg de Florisil e 1,5 g de MgSO₄ na extração em fase sólida dispersiva (dSPE), etapa de clean up. Após a extração dos resíduos da matriz, o extrato foi analisado utilizando como técnica instrumental o acoplamento LC-MS/MS com ionização por electrospray no modo positivo. Usando condições cromatográficas previamente desenvolvidas, os pesticidas puderam ser analisados em uma corrida cromatográfica de 13 minutos. O desempenho analítico foi demonstrado por meio de ensaios de recuperação de extratos fortificados em quatro níveis de concentração para cada analito 0,01; 0,025; 0,05 e 0,10 mg kg⁻¹. Recuperações na faixa de 70 a 120%, coeficientes de variação menores ou iguais a 20% e incerteza expandida menor que 50% foram obtidos para 116 analitos. Os limites de detecção (LD) dos analitos foram determinados em 0,005 mg kg⁻¹ e os limites de quantificação (LQ) foram de 0,01 e 0,025 mg.kg⁻¹. Estes dados de precisão e exatidão em condições de precisão intermediária satisfazem às recomendações da Comunidade Européia para resíduos de agrotóxicos explicitadas no documento SANCO N° 12571/2013 e do Manual da Garantia da Qualidade Analítica do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA). Além desses 116 analitos, outros 12 compostos não atenderam a todos os critérios de validação e foram considerados não validados para o método quantitativo. No entanto, esses analitos foram detectados e confirmados por duas transições, apresentaram razão sinal/ruído inferior a 6:1 no LD e razão de íons adequada e, assim, atenderam aos requisitos para validação no método qualitativo. Portanto, o método proposto utilizando QuEChERS no preparo de amostra e LC-MS/MS na detecção e quantificação multirresíduo de pesticidas em mel foi validado no modo quantitativo para 116 analitos e no modo qualitativo para 12 analitos, totalizando 128 analitos. O método validado mostrou ser rápido, eficiente e confiável e pode ser utilizado no monitoramento de pesticidas no mel.

Os autores agradecem a CAPES, CNPq, FAPEMIG e FINEP pelo suporte financeiro.



DETERMINAÇÃO DE FIPRONIL POR HPLC/DAD EMPREGANDO A MICROEXTRAÇÃO LÍQUIDO-LÍQUIDO DISPERSIVA (DLLME)

Faria, W. D.; Anacleto, S. S.; Teixeira, L.S.; Borges, K. B.

*Laboratório de Química Analítica, Universidade Federal de São João del-Rei
keyller@ufsj.edu.br*

Com o aumento exponencial da população mundial o setor agropecuário tem que produzir mais e com maior qualidade, para que se possa aumentar a produção com qualidade o setor investe cada vez mais em produtos agroquímicos. O fipronil descoberto em 1987 é um membro da família dos pesticidas quirais que é responsável por mais de 25% de todos os produtos agroquímicos utilizados. Devido à grande utilização de pesticidas como o fipronil na agropecuária este trabalho foi desenvolvido com objetivo de quantificar este pesticida em amostras de água. Desta forma, um método analítico desenvolvido empregando a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) com detecção por arranjos de diodos (DAD) juntamente com a microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME) para determinação de fipronil em amostras de água. Para obtenção da melhor condição cromatográfica foram analisadas: a variação de coluna cromatográfica, composição e proporção dos solventes empregados na fase móvel, fluxo, temperatura, volume de injeção, pH, dentre outros. As melhores condições obtidas foram: coluna Phenomenex® (250 x 4,60 mm, 5 µm), à temperatura de 25 °C, sobre condições isocráticas empregando 60% de acetonitrila, 30% de metanol e 10% de água, com vazão 1,2 mL/min, volume de injeção 5 µL e detecção 270 nm. Já a microextração foram avaliados: volume, ressuspensão, centrifugação e vários solventes extratores (diclorometano, tetracloreto de carbono, tetracloreto etileno, clorofórmio, clorobenzeno) em uma escala volumétrica de 70 a 130 µL, e como solvente dispersores, os miscíveis em água (acetona, acetonitrila e metanol) em uma escala de 400 a 700 µL. As melhores condições foram: volume injetado 650 µL solução (Dispersor/Extrator), volume de ressuspensão de 100 µL do dispersor, centrifugação de 2000 RPM por 5 minutos e a melhor recuperação obtida foi uma solução extrator/dispersor contendo 400 µL de metanol e 110 µL de clorobenzeno. Este método mostrou ser eficaz e simples para análise de fipronil em amostras de água, e também levando em consideração o baixo volume de solventes tóxicos empregados na técnica.

Agradecimentos: CNPq, FAPEMIG, CAPES e Rede Mineira de Química.

AVALIAÇÃO QUALITATIVA DE EFEITO DE MATRIZ NA DETERMINAÇÃO DE ANTIBIÓTICOS EM FÍGADO DE FRANGOS

Vanessa Gass da Silveira; Tibiriçá Gonçalves Vasconcelos;
Raquel Durand Coelho; Carlos Augusto Mallmann

Laboratório de Análises Micotoxicológicas (LAMIC)
Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS
mallmann@lamic.ufsm.br

Nas análises cromatográficas em amostras complexas, as respostas atribuídas aos antibióticos podem sofrer alterações causadas por componentes contidos na matriz, e a presença desses pode causar supressão ou aumento de ionização. Uma das formas de avaliação qualitativa do efeito de matriz é através de experimento de infusão pós-coluna, no qual uma amostra em branco injetada via cromatógrafo mistura-se ao analito continuamente infundido no espectrômetro de massas. Assim, este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de matriz na análise dos antibióticos clortetraciclina, oxitetraciclina, tetraciclina, enrofloxacino, ciprofloxacino e norfloxacino em diferentes amostras em branco de fígado de frango de corte. Investigou-se, também, o efeito da temperatura do gás de secagem no rendimento de ionização de matriz e analito. Para tanto, foram analisadas 10 amostras em branco de fígado provenientes de diferentes frangos de corte, porém, todos com a mesma idade e procedência. As amostras foram preparadas individualmente por homogeneização, pesagem e extração da fase líquida com acetonitrila. Em seguida, foram diluídas para posterior injeção no cromatógrafo líquido de alta eficiência modelo 1200 (Agilent Technologies), acoplado a um espectrômetro de massas API 4000 (Applied Biosystems). A coluna analítica utilizada foi uma Eclipse XDB-C18 (4.6 x 150 mm, 5 µm) e a fase móvel, ácido fórmico 0,2% em água (solvente A) e ácido fórmico 0,2% em metanol (solvente B), sob regime de gradiente. A avaliação das matrizes foi realizada através da injeção de 5 µL, simultaneamente com a contínua infusão do padrão dos antibióticos na concentração de 50 µg/L a uma vazão de 10 µL/min. As temperaturas do gás de secagem avaliadas foram 500, 600 e 700 °C. Escolheu-se trabalhar a 700 °C, temperatura na qual todos os antibióticos avaliados apresentaram maior rendimento de ionização e comprometimento do sinal analítico, além de minimização de efeito de matriz para a maioria dos compostos. De acordo com os resultados, não foi observado aumento ou supressão significativa da resposta analítica em nenhuma das amostras de fígado de frango nos tempos de retenção dos antibióticos estudados. Esse resultado também pode ser observado quando houve avaliação da infusão nas diferentes temperaturas do gás de secagem, mostrando que a temperatura não influenciou significativamente sobre a ionização. Dessa forma, os resultados qualitativos obtidos foram considerados satisfatórios no que diz respeito ao efeito de matriz das amostras de fígado de frango.

Agradecimento: CAPES.



COMPARAÇÃO DE PROCEDIMENTOS DE EXTRAÇÃO PARA ANÁLISE DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM CENOURA POR GC-MS

Juliana L. S. Batista (PG)*, Laís S. dos Santos (IC), Nicolas Schmidt (IC),
Márcia H. S. Kurz(PQ), Fábio F. Gonçalves (PQ)

*Laboratório de Análise de Resíduos e Contaminantes, Escola de Química e Alimentos,
Universidade Federal do Rio Grande, Campus Santo Antônio da Patrulha, RS*

**juliana.luizdasilva@yahoo.com.br*

Introdução: A cenoura é a quinta hortaliça mais consumida no Brasil e a quarta em São Paulo, sendo a principal fonte natural de carotenoides responsáveis pela pró vitamina A. Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), é permitido aos produtores de cenoura a aplicação de 25 princípios ativos, gerando assim um aumento da produção agrícola, é oportuno salientar que o tipo de plantio que este vegetal necessita é o imerso ao solo, o que faz com que ele esteja em contato direto com agrotóxicos usados no plantio, como também com os resíduos deixados por outras colheitas. Contudo é importante ressaltar que a maioria destes compostos não se degrada completamente na natureza, surgindo então um enorme interesse em pesquisa e monitoramento de resíduos de agrotóxicos em alimentos, a fim de promover a qualidade dos alimentos que chegam até o consumidor e evitando riscos a saúde dos mesmos. Neste trabalho, foram comparados diferentes procedimentos de extração utilizando o método QuEChERS para análise dos agrotóxicos trifluralina, carbofuran, pendimetalina, tebuconazole, difenoconazole, deltametrina e azoxistrobina em cenoura. Resultados e Discussão: As análises foram feitas utilizando equipamento GC-MS Perkin Elmer modelo Clarus 680 com detector de massas 600T, equipado com uma coluna Elite-5MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm de espessura de filme). A programação de temperatura do forno foi de 90 °C (1 min) - 15 °C/min até 300°C (5 min). As temperaturas do injetor, interface e fonte foram mantidas em 250°C. A vazão de hélio foi de 1 mL min⁻¹ e a injeção de 1 µL de solução foi realizada no modo split 1:50. Foi utilizado EI com 70 eV de energia operando no modo SIR (monitoramento seletivo de íons). A quantificação foi feita por calibração interna utilizando-se trifenilfosfato como padrão interno. As curvas analíticas foram construídas na matriz com 9 níveis de concentração: 10; 25; 50; 75; 100; 150; 500; 750 e 1000 ng mL⁻¹, e apresentaram coeficientes de correlação (R²) na faixa de 0,973 a 0,996. Os estudos de recuperação foram realizados no nível de fortificação de 50 µg kg⁻¹ utilizando-se método QuEChERS original e modificado (acetato e citrato). O QuEChERS original apresentou resultados de recuperação na faixa de 53 a 134%, enquanto o Quechers Acetato na faixa de 25 a 65% e o QuEChERS Citrato na faixa de 64 a 125%. Também foi proposto um procedimento utilizando, na etapa de clean-up, 50 mg de florisil e 50 mg de PSA, obtendo-se recuperação na faixa de 48 a 111%. Conclusões: Avaliando o número de compostos que apresentaram melhores recuperações a versão QuEChERS Citrato e QuEChERS utilizando florisil e PSA demonstraram serem mais eficientes em comparação com os outros métodos testados no estudo. Nenhum dos procedimentos testados apresentou recuperação dentro da faixa aceitável para o carbofuran. Palavras Chave: Quechers, cenoura, agrotóxicos.

Agradecimentos: FURG, CNPq, FAPERGS e CAPES.

MULTIRRESÍDUO EMPREGANDO UPLC-MS/MS E GC-MS/MS PARA DETERMINAÇÃO DE AGROTÓXICOS EM CEBOLA

Débora Renata C. de Souza¹, Maria Aparecida Rosa¹, Vera Lúcia Ferracini¹, Paula Tereza de S. e Silva²

¹Embrapa Meio Ambiente, Caixa Postal 69, CEP 13820-000, Jaguariúna/SP

²Embrapa Semiárido, Caixa Postal 23, CEP 56302-970 - Petrolina, PE

vera.ferracini@embrapa.br

A cebola (*Allium Cepa* L) é um dos mais importantes componentes da dieta humana em diferentes países, pois apresenta potencial antioxidante e anticancerígeno, sendo considerado um alimento funcional. Em relação ao uso de agrotóxico, sabe-se que essa cultura é altamente demandante, devido as pragas (mosca minadora (*Liriomyza sativae*), tripés (*Thrips palmi*), lagarta das folhas (*helicoverpa zea*) e doenças (míldio (*Peronospora destructor*)), mancha púrpura (*alternaria porri*). Embora o uso dos agrotóxicos contribui para o aumento da produção, existe a preocupação da sua presença nos alimentos. Segundo o relato da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, os brasileiros estão ingerindo alimentos com quantidade excessiva de resíduos de agrotóxicos, níveis acima dos permitidos pela legislação ou muitas vezes produtos não indicados para a cultura. O objetivo desse estudo foi validar um método capaz de identificar e quantificar a presença de 31 agrotóxicos, os mais empregados na cultura da cebola no Vale do São Francisco. Foi utilizado o método multiresíduo utilizando extração QuEChERS^[1] juntamente com a técnica de GC-MS/MS triplo quadrupolo e a técnica de UPLC-ESI-MS/MS. Para GC-MS/MS o método foi sensível para análise de 20 agrotóxicos monitorando duas transições para cada analito. No sistema de cromatografia gasosa, o modo PTV de injeção foi utilizado para volumes de 3µL em acetato de etila. Na validação do método, os limites de detecção (LD) 0,005 mg Kg⁻¹ a 0,01 mg Kg⁻¹ foram estabelecidos com dois níveis de fortificação, com cinco repetições. O menor nível de quantificação (LQ) foi de 0,01mg Kg⁻¹ e para o nível 2 foi de 0,05mg Kg⁻¹. Os cálculos de quantificação foram realizados utilizando curva na matriz apresentando coeficiente de correlação $r > 0,99$. As recuperações variaram de 63,1 a 96,2% com desvio padrão relativo (DPRr) de até <11,5%. Para a técnica de UPLC-ESI-MS/MS o modo MRM foi selecionado com o monitoramento de duas transições com sensibilidade para 11 analitos. Na separação cromatográfica foi utilizada a coluna acquity UPLC® BEH C18 column (1,7µm, 2,1mm ID, 100mm). O limite de detecção (LD) foi de 0,02mg Kg⁻¹ e dois níveis de fortificação foram avaliados utilizando cinco repetições. O menor nível de LQ foi de 0,10mg Kg⁻¹ e a quantificação foi realizada utilizando curva na matriz apresentando coeficiente de correlação $r > 0,99$. As recuperações variaram de 64,5 a 89,2 % com desvio padrão relativo (DPRr) de até <13,1%. O método é capaz de quantificar os agrotóxicos utilizados na cebola, atendendo os limites máximos recomendados pela legislação brasileira.

[1] Anastassiades, M; Lehotay, S; Stajnbaher, D; Schenck, F J; J. AOAC Int. 2003, 83-412.



INCERTEZA DE UM MÉTODO MULTIRRESÍDUO DE PESTICIDAS EM MORANGO POR CG-MS/MS

Débora R. C. de Souza, Vera L. Ferracini, Sonia C. N. Queiroz

*Laboratório de Resíduos e Contaminantes-Embrapa Meio Ambiente,
Caixa Postal 69, CEP 13820-000, Jaguariúna – SP
vera.ferracini@embrapa.br*

O cultivo comercial de morangos no Brasil recebe a aplicação frequente de um grande número de pesticidas em toda a época agrícola para controlar uma variedade de pragas e doenças. A presença de resíduos de pesticidas em alimentos constitui uma das maiores preocupações em termos de segurança de alimentos. A validação, incluindo o cálculo de incerteza, foi realizada utilizando o QuEChERS^[1] seguido de quantificação e confirmação por GC-MS/MS para 39 pesticidas, pertencentes a diferentes classes de inseticidas, acaricidas, fungicidas e herbicidas. Foi utilizado o equipamento de cromatografia gasosa acoplado ao detector de massas (CG-MS/MS) no modo PTV de injeção onde foram estabelecidas duas transições. Durante a validação do método, além da linearidade foram avaliadas a precisão e recuperação, que são fatores primordiais que podem influenciar diretamente no resultado final da incerteza. Foram avaliados dois níveis de fortificação com cinco repetições e a quantificação foi realizada utilizando curva na matriz apresentando coeficiente de correlação $r > 0,99$. O menor nível de quantificação (LQ) variou de $0,01 \text{ mg Kg}^{-1}$ a $0,1 \text{ mg Kg}^{-1}$ e para nível 2 a variação foi de $0,02 \text{ mg Kg}^{-1}$ a $1,00 \text{ mg Kg}^{-1}$. Os limites de detecção (LD) estabelecidos foram de $0,001 \text{ mg Kg}^{-1}$ a $0,008 \text{ mg Kg}^{-1}$ e os percentuais de recuperação na faixa de 71,5 a 113,2% demonstrando que os resultados estão dentro do exigido, ou seja, entre 70 e 120% e com desvio padrão relativo que não excederam os 20%. Com os parâmetros principais foram calculadas a incerteza combinada e a incerteza expandida. O cálculo da incerteza, realizado segundo a EURACHEM/CITAC^[2] mostrou a confiabilidade dos resultados, uma vez que foram obtidos valores abaixo de 50%, aceitável segundo o guia SANCO^[3].

Referências:

- [1] Anastassiades, M; Lehotay, S; Stajnbaher, D; Schenck, F J; J. AOAC Int. 2003, 83-412.
- [2] EURACHEM- Sociedade Brasileira de Metrologia (SBM). Primeira Edição Brasileira do Guia EURACHEM/CITAC Determinando a incerteza de medição em química analítica. 2º ed. Rio de Janeiro: Sociedade Brasileira de Metrologia, 2000.
- [3] SANCO/12495 –Method Validation and Quality Control Procedures for Pesticide Residues Analysis and Food and Feed. Document N° SANCO/12495/2011-2012.

DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO QUECHERS PARA A DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE SULFONAMIDAS EM LEITE UHT

Santos, J.R.M.P.; Monteiro, M.A.; Spisso, B.F.; Costa, R.P.;
Ferreira, R.G.;Pereira, M.U.; Melo, J.M.C.; Oliveira, L.A.G.

*Laboratório de Alimentos - Departamento de Química
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde- Fiocruz
juliamartinsmps@hotmail.com*

As sulfonamidas (SAs) são uma classe de antimicrobianos sintéticos amplamente utilizadas tanto na medicina veterinária quanto na medicina humana. São empregadas para tratar doenças, controlar e prevenir infecções e para a promoção do crescimento de animais produtores de alimentos, embora este último uso não seja autorizado no Brasil. No entanto, estes medicamentos podem causar efeitos adversos à saúde como problemas cardíacos, reações alérgicas, disfunções hepáticas e digestivas. Adicionalmente, existe a preocupação cada vez maior com a resistência bacteriana devido ao uso de antimicrobianos. O manejo inadequado dessas substâncias na medicina veterinária pode levar ao aparecimento de resíduos desses medicamentos nos alimentos em níveis inseguros à saúde humana. Para o controle de resíduos em alimentos foram criados programas que visam o monitoramento, baseados no atendimento aos LMR (Limites Máximos de Resíduos). Um LMR de 100 µg/kg foi estabelecido no Brasil para o somatório de sulfadimetoxina, sulfaquinoxalina, sulfametazina e sulfatiazol em leite. Já a União Européia (UE) considera o mesmo valor para o total combinado dos resíduos de todas as substâncias do grupo das SAs. No âmbito da saúde, a Anvisa é o órgão responsável pelo Programa de Monitoramento de Resíduos de Medicamentos Veterinários em Alimentos de Origem Animal (PAMVet) e o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) visa garantir a qualidade da produção de alimentos de origem animal ao longo das cadeias produtivas através do Plano Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes – PNCRC Animal. O objetivo deste trabalho foi propor uma metodologia para determinação de sulfonamidas em leite UHT (sulfadimetoxina, sulfamerazina, sulfametazina, sulfanilamida, sulfametoxazol, sulfaquinoxalina, sulfatiazol e dapsona). A extração foi feita pelo método QuEChERS, que tem como vantagens ser rápido, fácil, econômico, efetivo, robusto e seguro. O leite foi extraído com acetonitrila acidificada com ácido fórmico 0,1% com posterior adição de sulfato de magnésio e acetato de sódio. As amostras foram centrifugadas e uma alíquota do sobrenadante foi levada à secra sob fluxo de N₂ e aquecimento e ressuspendidas com uma solução de 80% de ácido fórmico 0,1% em água e 20% de metanol. As amostras foram analisadas por LC-MS/MS com ionização por eletrospray positivo (ESI+). O método utilizado foi considerado eficiente, obtendo-se boa separação entre os picos e boa linearidade no intervalo de 12,5 a 300 µg/kg com um $R^2 \geq 0,9868$. A recuperação dos analitos no método foi de 93% a 103%, com desvio padrão relativo $\leq 11\%$. Os ensaios demonstraram ainda que o método é adequado para a análise das sulfonamidas considerando o LMR estabelecido pela legislação brasileira e europeia.

Agradecimentos ao Ministério da Saúde pela concessão da bolsa de Residência Multiprofissional em Vigilância Sanitária.



EVALUATION OF THE STATE-OF-ART OF THE USE OF CHROMATOGRAPHIC TECHNIQUES IN OCHRATOXIN A ANALYSIS IN BEER AND WINE

Mariane Aissa Andrade, Fernando Mauro Lanças

Institute of Chemistry of São Carlos, University of São Paulo

Av. Trabalhador São Carlense, 400 – São Carlos- SP

marianeaissa@gmail.com, flancas@iqsc.usp.br

Mycotoxins (mykes = fungi; toxicum = poison) are secondary metabolites, with low molecular weight (M. W. ~ 700 u), potentially toxic to humans and animals when ingested, causing a variety of diseases. They are mainly found in a range of agricultural commodities such as cereals, peanuts, dried fruits, coffee, corn, cocoa and also beer and wine. Ochratoxin A (OTA) (M. W. = 403,8 u) is mainly produced by fungus from the genre *Aspergillus* and *Penicillium*. Studies have been shown that OTA has immunosuppressive, carcinogenic, teratogenic, mutagenic and fertility inhibitor effects. In beer, OTA is carried with contaminated cereals used in its production, mainly malting barley, and it maintains stable during all brewing process, being found in the final product. In wine, which is the second source of OTA, fungus grow in the berry skins and the contact of them with the wort, specially in the mashing stage, transmit the toxin to the final product. OTA has been widely studied and, for its quantification, updated extraction and separation techniques have been used. For extraction, a Molecularly Imprinted Polymer (MIP) was developed for use in Solid-Phase Extraction (SPE). Results showed that the use of MIP-SPE for OTA extraction in beer and wine is as affective as the use of the Immunoaffinity collums (IAC) in SPE, which is already extensively used. In the same way, a Hollow Fiber Liquid-Phase Microextraction (HF-LFME) was tested and OTA could be extracted by a simpler and cheaper procedure. Both techniques presented a low Limit of Quantification (LOQ) (less than $0.1 \mu\text{g L}^{-1}$). For separation, High Performance Thin Layer (HPTLC) using a Charged Couple Device (CCD) was used to analyse OTA in Brazilian wines. This technique allows the analysis of OTA in wines in a fast, simple and economical method, with low LOQ ($0.01 \mu\text{g L}^{-1}$). The concentration of OTA in beer and wine is very low (order of ppb) and the current extraction and separation techniques for the analysis of this toxin in these matrices have allowed its quantification. Specific, simple, cheaper and environmentally friendly methods described in this presentation were developed, replacing tedious, expensive and complicated methods.

Acknowledgment: To CNPq and FAPESP for financial support.

INCREASING EXTRACTION EFFICIENCY OF PESTICIDES AND DIOXINS FROM WET SAMPLES BY A NOVEL POLYMER-ASE

Katerina Bousova¹, Pranathi Perati², Rahmat Ullah²,
 Kannan Srinivasan², Marc Yves Chalom³, Sanderson Souza³

*Thermo Fisher Scientific, ¹Dreieich, DE; ²Sunnyvale, CA, USA; ³São Paulo, SP, BR
 marc.chalom@thermofisher.com*

Accelerated solvent extraction (ASE) is a high-temperature, high-pressure extraction technique that is widely used for sample extractions in the environmental, chemical and food analysis industries. Extractions at higher temperatures and pressures allow faster extraction of analytes relative to conventional solid-liquid based extraction techniques such as Soxhlet. Typically the sample is mixed with a dispersant and loaded into a cell followed by extraction with a suitable solvent. Analyte recovery using this method of extraction for wet samples is always challenging, as the presence of water in the sample can interfere with the extraction efficiency. The analyte of interest may partition between the extracting solvent and the water phase. It is therefore desirable to dry the sample prior to extraction. Traditional drying techniques that involve mixing the wet sample with an inorganic salt that has a high affinity for the aqueous phase are unsuitable for in-cell extraction. This study presents the use of a novel new polymer for in-line drying of a wet sample for the analysis of organochlorine pesticides, and polyaromatic hydrocarbons (PAHs) in different matrices. This polymer is designed to remove moisture and increase extraction efficiencies from wet samples including soils, tissues and food products. It allows moisture removal under a variety of ionic strength conditions and accelerated solvent extraction conditions. It is useful for in-cell extractions of trace level organics from a variety of moisture containing samples such as soil, sediments, animal tissue, fruits, and vegetables with no additional pre or post extraction steps. Moisture containing samples (as oyster and soil samples) were used or a known amount of water was added to dry samples. The samples were either treated with a 1:1 ratio of dispersant and the new polymer or by using sodium sulfate as the drying agent prior to in-cell extraction in the ASE system. Two different ASE conditions were used. Data showing recoveries for target compounds in different matrices will be presented. As an example, the results of an oyster sample shows recoveries ranging from 91% for Lindane to 114% for DDT when the extractions are done using the dispersant and polymer mixture and the recoveries for extractions done with sodium sulfate are considerably lower ranging from 69% for DDT to 81% for Lindane. The data shows that the new polymer is an effective drying agent for wet oyster samples with excellent recoveries for the organochlorine pesticides investigated.



QUECHERS E LC-MS QTOF NA IDENTIFICAÇÃO POR VARREDURA DE CONTAMINANTES EMERGENTES EM FILÉ DE PEIXE

Juliana S. Munaretto, Osmar D. Prestes, Marília M. May,
Nathália Saibt, Martha B. Adaime e Renato Zanella*

*Laboratório de Análise de Resíduos de Pesticidas, Departamento de Química,
Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, RS, Brasil
renatozanella@pq.cnpq.br*

O uso exagerado de contaminantes emergentes como: agrotóxicos, fármacos e produtos de cuidado pessoal (PPCPs) tem como consequência a contaminação ambiental dos organismos vivos, principalmente dos organismos aquáticos expostos continuamente a essas substâncias. Devido aos efeitos ecotoxicológicos gerados a partir de concentrações baixas destes contaminantes, vem crescendo a necessidade do emprego de técnicas analíticas cada vez mais sensíveis e que gerem resultados rápidos e confiáveis. Desse modo, a espectrometria de massas de alta resolução tem-se tornado uma ferramenta indispensável para a realização de análises visando a busca de compostos non-target. Assim, este trabalho teve como objetivo a validação de um procedimento para identificação de contaminantes emergentes (agrotóxicos e PPCPs) em filé de peixe no modo de varredura por cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas do tipo quadrupolo-tempo de voo (LC-MS QTOF) de acordo com o estabelecido no manual da SANCO. O procedimento de preparo de amostra foi baseado no método QuEChERS original, porém empregando sulfato de sódio como sal secante, seguido de etapa de limpeza por d-SPE com C18, PSA e sulfato de sódio. A determinação foi realizada no sistema LC-MS QTOF modelo 6530, no modo de varredura na faixa de 100 a 1000 m/z, com emprego de ionização por eletronebulização positiva (ESI+). Analisou-se 20 amostras fortificadas no limite de detecção por varredura, SDL (10 e 25 µg/kg). As amostras foram analisadas no software Qualitative B.06.00 e foram confrontadas com uma biblioteca criada no próprio laboratório, na qual continham informações de fórmula molecular, massa monoisotópica e tempo de retenção. Os resultados obtidos pela busca foram analisados um a um, sendo que somente foi considerada identificação positiva quando no mínimo 95% das amostras forem identificadas adequadamente (5% de falsos negativos). Para esse tipo de validação não há necessidade de avaliação de parâmetros de exatidão e precisão, porém para fins de controle de qualidade fez-se uso de padrões de controle e interno, atrazina-d5 e trifenilfosfato, respectivamente. Um total de 127 compostos foram identificados adequadamente, com diferentes valores de SLD, sendo que desses 114 apresentaram erro de exatidão de massas <5 ppm, estando de acordo com o manual da SANCO e 103 compostos demonstraram um score superior a 90%. Esses resultados indicam que o método de varredura validado atende as demandas estabelecidas pela SANCO, bem como demonstrou ser adequado para a rápida identificação de possíveis contaminantes emergentes em amostras de filé de peixe.

Agradecimentos: Agilent Technologies, CAPES, CNPq e FINER.

DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE AVERMECTINAS EM LEITE BOVINO E BUBALINO EMPREGANDO QUECHERS E UHPLCMS/MS

Lucila C. Ribeiro, Nelson M. Bandeira, Luana Floriano, Tieli Rizzeti,
Osmar D. Prestes, Renato Zanella, Martha B. Adaime*

*Laboratório de Análises de Resíduos de Pesticidas, Departamento de Química
Universidade Federal de Santa Maria, 97105-900, Santa Maria-RS, Brasil
adaimeccne@yahoo.com.br*

No cenário internacional, o Brasil é o sexto maior produtor de leite, com 4,5% da produção mundial. A utilização de medicamentos veterinários em animais produtores de alimento é uma prática comum para tratamento e prevenção de doenças. No Brasil, devido a grande produção de carne e leite bovinos, aumenta a cada ano o consumo de medicamentos veterinários. Uma das classes de medicamento veterinários mais utilizadas são as avermectinas. Atualmente o MAPA instituiu a Normativa N° 13 de 29 de maio de 2014 que proíbe a utilização de avermectinas de longa duração para uso veterinário. O método QuEChERS aliado a UHPLC-MS/MS demonstra alto potencial na análise de avermectinas gerando resultados confiáveis para atender aos órgãos de controle. Portanto, o presente estudo teve como objetivo desenvolver um método para a determinação de avermectinas (ivermectina, eprinomectina, abamectina, emamectina e doramectina) em leite bovino e bubalino. No preparo de amostra utilizou-se 10 mL de leite e 10 mL de acetonitrila contendo 1% (v/v) ácido acético. A etapa de partição foi realizada com adição de sulfato de magnésio anidro e acetato de sódio. Durante a etapa de limpeza adicionou-se sulfato de magnésio anidro, PSA e C18. A análise cromatográfica foi realizada utilizando o sistema UHPLC-MS/MS com coluna Acquity UPLC BEH C18 (50 × 2,1 mm d.i., 1,7 µm tamanho de partícula). A fase móvel utilizada foi uma solução aquosa com 10 mmol/L de formiato de amônio e acetonitrila contendo 0,1% (v/v) de ácido fórmico, com vazão de 0,225 mL/min e volume de injeção de 10 µL. A linearidade foi avaliada através de curvas de calibração preparadas no extrato da matriz na faixa de 2,5 a 50 µg/L. Avaliou-se três níveis de fortificação entre 5 e 30 µg/L para cada um dos compostos. Os resultados de recuperação obtidos foram de 81,8 a 131,0%, com RSD ≤ 13,8% para os 3 níveis de fortificação avaliados. O método apresentou bons valores de LOD (1,5 a 3 µg/L) e de LOQ (5 a 10 µg/L). O método mostrou-se eficiente para a determinação de resíduos de avermectinas em leite bovino e bubalino. A aplicação em 9 amostras de leite bovino e 20 amostras de leite bubalino comprovou que o método é adequado para análises de rotina, sendo que em 1 amostra de leite bovino e em 3 amostras de leite bubalino foram detectados resíduos de doramectina e ivermectina, respectivamente, ambos abaixo do LOQ.

Agradecimentos: CNPQ, CAPES e FINEP.



MÉTODO MULTIRRESÍDUO PARA DETERMINAÇÃO DE 73 AGROTÓXICOS EM VINHO POR UHPLC-MS/MS

Gabrieli Bernardi, Luana Berwaldt, Martha B. Adaime, Osmar D. Prestes, Renato Zanella*

Laboratório de Análises de Resíduos de Pesticidas, Departamento de Química,

Universidade Federal de Santa Maria, 97105-900, Santa Maria-RS, Brasil

rzanella@base.ufsm.br

O Rio Grande do Sul é o maior produtor brasileiro de vinhos, suco de uva e derivados, onde são elaborados, em média, 330 milhões de litros de vinhos e mostos por ano. A obtenção de vinhos de boa qualidade e de inserção internacional demanda uma série de análises paracomprovar a sua qualidade, com destaque para a determinação de resíduos de agrotóxicos, provenientes dos processos de cultivo da uva. A legislação Brasileira não dispõe de valores de Limite Máximo de Resíduos (LMR) para resíduos de agrotóxicos em vinho, mas estabelece limites para 47 compostos, de diferentes classes, em uva. Entretanto, estudos demonstram que mesmo a uva passando pelo processo de vinificação, boa parte dos agrotóxicos presentes na uva permanecem no produto final. Devido à baixa concentração dos analitos nas amostras e a grande quantidade de substâncias interferentes que podem ser coextraídas a determinação de resíduos de agrotóxicos em vinhos é um grande desafio. Dentre os compostos mais encontrados nesse tipo de amostra destacam-se a classe dos fungicidas e dentre as metodologias mais aplicadas para esse tipo de determinação estão desde as técnicas de microextração até os métodos mais abrangentes como QuEChERS. O objetivo deste trabalho foi o desenvolvimento de um método multirresíduo para a determinação de 73 agrotóxicos de diferentes classes em vinho tinto utilizando uma modificação do método QuEChERS acetato e posterior análise por Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência acoplada à Espectrometria de Massas em série (UHPLC-MS/MS). Na extração foram utilizados 10 mL de amostra e 10 mL de acetonitrila acidificada com 1% (v/v) de ácido acético. A partição ocorreu com a adição de sulfato de magnésio e acetato de sódio, agitação por 1 min e centrifugação a 3400 rpm por 8 min. A limpeza dos extratos foi realizada através do processo de extração em fase sólida dispersiva utilizando uma mistura de sulfato de magnésio, C18 e de PSA, seguido de agitação por 1 min e centrifugação a 3400 rpm por 8 min. O extrato final foi filtrado, diluído e analisado. O método desenvolvido foi avaliado de acordo com: linearidade (curva analítica), limite de detecção (LOD) e limite de quantificação (LOQ), precisão e exatidão (ensaios de recuperação). Os valores de LOD e LOQ foram de 1,5 e 5,0 µg/L, respectivamente, ficando abaixo dos valores estabelecidos para uva. As curvas analíticas foram obtidas na matriz e apresentaram faixa linear no intervalo de 0,5 a 20 µg/L com valores de coeficiente de determinação $\geq 0,99$ para todos os compostos avaliados. No ensaio de recuperação foram obtidos valores satisfatórios entre 71 a 112% para os níveis de fortificação 5, 10 e 20 µg/L com valores de RSD $\leq 19\%$.

Agradcimentos: CNPq, CAPES e FINEP.

DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO RÁPIDO PARA A DETERMINAÇÃO DE NATAMICINA EM VINHO E SUCO DE UVA

Gabrieli Bernardi, Tiele M. Rizzetti, Martha B. Adaime, Renato Zanella, Osmar D. Prestes*

*Laboratório de Análises de Resíduos de Pesticidas, Departamento de Química,
Universidade Federal de Santa Maria, 97105-900, Santa Maria-RS, Brasil
osmar.prestes@ufsm.br*

A presença de conservantes em sucos e vinhos tem como finalidade prevenir a ocorrência de alterações indesejáveis no produto. A natamicina é um antifúngico macrolídeo produzido pela bactéria *Streptomyces natalensis*, cujo emprego como aditivo alimentar está principalmente relacionado ao tratamento de superfície de queijos e embutidos. A utilização deste composto em vinhos não está autorizada pelo Código de Práticas Enológicas da Organização Internacional do Vinho (OIV). Entretanto, alguns países como a África do Sul e China autorizam a utilização de natamicina como aditivo alimentar em vinhos e sucos de frutas. No Brasil e demais países do Continente Americano, bem como na Comunidade Européia o uso de natamicina em vinhos e sucos é caracterizado como uma fraude do produto. Atualmente o Limite máximo de resíduos (LMR) estabelecido para esse composto em vinho é de 5 µg/L. Considerando o baixo limite, as propriedades físico-químicas da natamicina e a complexidade da amostra, sua determinação representa um desafio. Os métodos existentes na literatura para determinação de natamicina em vinho utilizam técnicas como SPE, que demandam tempo de análise ou utilizam filtração seguida de injeção direta no sistema cromatográfico. Entretanto, esta abordagem além de não eliminar os interferentes pode trazer danos instrumentais ao equipamento. Devido aos recentes casos de utilização indevida deste composto, o objetivo deste trabalho foi o desenvolvimento de um método rápido, fácil e efetivo, que possa ser aplicado em análises de rotina, para a determinação de resíduo de natamicina em vinho tinto e suco de uva integral empregando UHPLC-MS/MS. O preparo de amostra consistiu das seguintes etapas: diluição da amostra com metanol, limpeza da amostra com PSA, centrifugação durante 5 min (10000 rpm) e filtração com filtro de nylon 0,2 µm. A curva analítica para natamicina apresentou faixa linear entre 0,2 e 20 µg/L tanto para vinho como para suco integral, com valores de coeficiente de determinação maiores que 0,99. Os valores de LOD e LOQ do método foram de 0,6 e 2,0 µg/L, respectivamente. Amostras branco foram fortificadas nas concentrações 2, 5 e 10 µg/L e as recuperações foram avaliadas. Valores satisfatórios de recuperação (91 a 113%) foram obtidos para todos os níveis analisados, com valores de RSD ≤ 14%. Quando comparado aos métodos existentes para determinação de natamicina, o método proposto apresentou valores similares de recuperação, entretanto, com poucas etapas no preparo de amostra sendo ideal para aplicação em análises de rotina. Além disso, os limites obtidos atingiram o limite requerido pela legislação.

Agradecimentos: CNPq, CAPES e FINEP.



DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM ARROZ EMPREGANDO SLE/LTP E GC-MS/MS TRIPLO QUADRUPOLO

Luana Floriano, Lucila C. Ribeiro, Débora Orso, Gabriel Capeletto,
Osmar D. Prestes, Martha B. Adaime, Renato Zanella

*Laboratório de Análises de Resíduos de Pesticidas, Departamento de Química,
Universidade Federal de Santa Maria, 97105-900, Santa Maria-RS, Brasil*

**rzanella@base.ufsm.br*

O arroz é o cereal de maior importância alimentar no mundo, fornecendo 20% da energia e 15% da proteína necessárias ao homem. Além disso, desempenha um papel estratégico na economia, pois cerca de 590 milhões de toneladas de arroz são produzidas anualmente, sendo que o Brasil ocupa a nona posição na produção mundial. A utilização de agrotóxicos é uma prática comum para combater pragas e doenças que afetam o crescimento, desenvolvimento e produtividade deste e de outros cereais. No entanto, níveis de agrotóxicos acima dos limites máximos permitidos colocam em risco a segurança alimentar e ambiental e podem causar enormes prejuízos econômicos, visto a proibição imposta por mercados externos. Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi desenvolver um método simples e eficiente para a determinação de resíduos de agrotóxicos em arroz, empregando a extração sólido-líquido com partição a baixa temperatura (SLE/LTP) e GC-MS/MS triplo quadrupolo. Na etapa de extração dos analitos utilizou-se 2 g de amostra, 4 mL de água ultrapura e 8 mL de acetonitrila. Após agitação por 1 min, o extrato foi mantido a uma temperatura de -20 °C overnight, a fim de promover a separação das fases aquosa/orgânica e também dos co-extrativos. Posteriormente, o líquido sobrenadante foi filtrado na presença de sulfato de sódio anidro. As condições definidas para a análise foram: temperatura do injetor de 280 °C; temperatura da coluna: 45 °C (1,0 min), 30 °C/min, até 300 °C (1,0 min), totalizando 15 min. A linearidade foi avaliada através de curva analítica entre 5 e 200 µg/L, preparada no extrato da matriz. A exatidão foi obtida a partir de ensaio de recuperação nos níveis de 10, 50 e 150 µg/kg, apresentando recuperações entre 66,6 a 127,5% e RSD ≤ 21,7% para a maioria dos compostos. Os valores de LOD e LOQ apresentados pelo método foram 3 e 10 µg/kg, respectivamente. Diante dos resultados apresentados, pode-se verificar a eficiência do método SLE/LTP combinado a GC-MS/MS triplo quadrupolo na determinação de resíduos de agrotóxicos em arroz, podendo ser empregado em análises de rotina e monitoramento destes compostos.

Agradecimentos: CNPq, CAPES e FINEP.

DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM SUCO DE MIRTILO POR GC-MS/MS

Natalia C. Muñoz, Lucila C. Ribeiro, Luana Floriano, Marisa Demarco,
Osmar D. Prestes, Renato Zanella, Martha B. Adaime*

*Laboratório de Análises de Resíduos de Pesticidas, Departamento de Química,
Universidade Federal de Santa Maria, 97015-900, Santa Maria-RS, Brasil
adaimeccne@yahoo.com.br*

Considera-se que a principal fonte de processos oxidativos, tais como, envelhecimento, doenças cardiovasculares e processos cancerígenos são decorrentes de inumeros agentes prejudiciais, incluindo a poluição química, subprodutos da combustão, stress, dieta, entre outros. O mirtilo é uma boa fonte de antioxidantes, contidos principalmente na casca, no entanto para cultivar a fruta é essencial o uso de agrotóxicos, os quais são aplicados durante o seu cultivo. Níveis de agrotóxicos acima do permitido representam um risco para a saúde, logo é importante monitorar os níveis destas substâncias nos alimentos. Dessa forma, este estudo tem como objetivo desenvolver um método para determinação multiresíduo de agrotóxicos em suco de mirtilo, utilizando o ultrassom na etapa de preparo de amostra, seguido por determinação por GC- MS/MS triploquadrupolo. Durante a etapa de extração utilizou-se, 5 mL de amostra e 10 mL de acetonitrila contendo 1% (v/v) ácido acético, com agitação manual por 1 min e extração ultrassom durante 20 min. Na etapa de partição, promoveu-se o efeito salting-out com cloreto de sódio e sulfato de magnésio anidro, seguidas de agitação manual por 1 min. O extrato foi centrifugado à 3600 rpm por 8 min. Após, 2 mL do sobrenadante foram submetidos a etapa de limpeza com PSA e C18. Para a análise por GC-MS/MS. Empregou-se as seguintes condições no sistema GC-MS/MS: temperatura do injetor de 280 °C; temperatura da coluna: 45 °C (1,0 min), 30 °C/min, até 300 °C (1,0 min), totalizando 15 min, utilizou-se vazão de 1,2 mL/min. Avaliou-se a linearidade na faixa de 5 a 200 µg/L, e a exatidão foi avaliada em 10, 50 e 150 µg/L, obtendo recuperações de 50 a 130% e RSD ≤ 20%. O método apresentou LOD de 1,51 e 3 µg/L e LOQ de 5 e 10 µg/L. Tendo em vista os resultados apresentados, considera-se que o método de preparo de amostras aliado a técnica GC-MS/MS é eficiente na determinação multiresíduo de agrotóxicos em suco de mirtilo, apresentando boa sensibilidade, exatidão e precisão.

Agradecimentos: CNPq, CAPES e Finep.



COMPARAÇÃO DE DIFERENTES SORVENTES NA REMOÇÃO DE GORDURA DURANTE ETAPA DE D-SPE NO MÉTODO QUECHERS

Nelson M. G. Bandeira, Pimperelli J. dos Santos, Manoel L. Martins,
Martha B. Adaime, Renato Zanella, Osmar D. Prestes

*Laboratório de Análises de Resíduos de Pesticidas, Departamento de Química,
Universidade Federal de Santa Maria, 97105-900, Santa Maria-RS, Brasil
osmar.prestes@ufsm.br*

A presença de resíduos de agrotóxicos em alimentos apresenta risco à saúde humana. Por outro lado, seu uso em diferentes culturas pode garantir alta produtividade. Assim, a concentração destes compostos em alimentos e bebidas deve obedecer limites máximos de resíduos (LMR), estabelecidos por diferentes legislações. O método QuEChERS propõe uma extração simples e rápida em três etapas: extração com acetonitrila; partição com adição de sais e limpeza do extrato. Na etapa de d-SPE, alguns sorventes são utilizados visando a remoção de diferentes tipos de interferentes, de acordo com a composição de cada matriz analisada. Neste trabalho, o objetivo foi comparar a eficiência dos sorventes comumente utilizados na etapa de d-SPE, como PSA e C18, com sorvente contendo grupos de zircônia (Z-Sep+) para a remoção de gordura em extrato de ovos, abacate e leite. A etapa de extração foi baseada na utilização de 10 mL de acetonitrila acidificada com 1% ácido acético (v/v) para 10 g de amostra, seguida de agitação manual por 1 min. Para a etapa de partição utilizou-se sulfato de magnésio anidro e acetato de sódio, com agitação manual por 1 min. Após realizou-se centrifugação por 8 min a 5400 rpm. O extrato foi submetido a diferentes combinações de sorvente: PSA; C18; Z-Sep+; PSA+C18; PSA+Z-Sep+; e C18+Z-Sep+. Empregou-se a gravimetria para avaliar a remoção de gordura. O uso de PSA promoveu remoção de gordura inferior a 30% para todas matrizes testadas. Por outro lado, C18 promoveu remoção de gordura de 70% para ovos e leite e < 60% para abacate. O uso de Z-Sep+ promoveu remoção de 70% para ovos e abacate e aproximadamente 50% para leite. O sorvente PSA combinado com C18 promoveu aumento da remoção de 4%, enquanto que em conjunto com Z-Sep+, a remoção atingiu 78%. Quando combinados C18 e Z-Sep+ promoveram remoções superiores a 77% para ovos e leite e 78,5% para abacate. A combinação C18+PSA é comumente utilizada em análises de rotina para matrizes com alto teor de gordura por ter bom percentual de remoção de interferentes e promover níveis de recuperação adequados. Por isso, comparou-se com a combinação C18+Z-Sep+ em termos de recuperação, através de ensaios de fortificação a 50 µg/kg, aplicadas a uma análise multirresíduo de agrotóxicos nas matrizes acima citadas. Em geral, a utilização de C18 + PSA, promoveu recuperações entre 70,6 e 111,5% (RSD, <20%) e foi mais efetiva em termos de recuperação frente a utilização de C18+Z-Sep+. Por outro lado, a utilização de C18+Z-Sep+ apresentou melhor precisão para leite e abacate, sendo equivalente a C18+PSA para ovos.

Agradecimentos: CNPq, CAPES e Finep.

MÉTODO MULTIRRESÍDUO PARA DETERMINAÇÃO DE AGROTÓXICOS EM BEBIDAS À BASE DE SOJA POR UHPLC-MS/MS

Marília M. May, Luana Floriano, Osmar D. Prestes, Renato Zanella, Martha B. Adaime*

*Laboratório de Análises de Resíduos de Pesticidas, Departamento de Química,
Universidade Federal de Santa Maria, 97105-900, Santa Maria RS, Brasil
adaimeccne@yahoo.com.br*

A soja é uma leguminosa produzida em larga escala, sendo o Brasil um dos maiores produtores mundiais do grão. As bebidas à base de soja têm grande aceitabilidade entre consumidores, e por serem extraídas do grão, os componentes benéficos são preservados, mas também podem conter resíduos de agrotóxicos empregados para controlar a infestação de pragas durante o cultivo. Visando melhorar a saúde da população e controlar o uso indiscriminado de agrotóxicos é necessário monitorar a presença de resíduos através de métodos analíticos rápidos, seletivos e sensíveis. As bebidas de soja são uma matriz complexa, necessitam métodos de extração que sejam capazes de extrair os analitos de interesse com o mínimo de co-extrativos que possam interferir na análise. O objetivo deste trabalho foi desenvolver método para determinação multirresíduo de agrotóxicos em bebidas à base de soja, utilizando o método QuEChERS e UHPLC-MS/MS. As amostras utilizadas foram leite de soja e sucos à base de soja com sabor de maçã e laranja, oriundos do comércio local. Na etapa de preparo de amostra, utilizou-se 10 mL de amostra e 10 mL de acetonitrila acidificada com 1% de ácido acético (v/v). A etapa de limpeza para extratos de leite de soja e suco à base de soja sabor maçã foi realizada com MgSO₄, PSA e C18. Para suco à base de soja sabor laranja, além destes, foi adicionado GCB para eliminar pigmentos. Posteriormente, as amostras foram filtradas em filtro de nylon 0,2 µm, diluídas em água e foi adicionado padrão interno trifenilfosfato. Para avaliar a exatidão do método, as amostras foram fortificadas com 10, 25 e 50 µg/L, em triplicata. Para avaliação do efeito matriz foram comparadas curvas no solvente acetonitrila e curvas preparadas no extrato de cada matriz. Dos 94 compostos avaliados, 73 apresentaram recuperação entre 70,6 e 119,8% e RSD<19,9% para a matriz leite de soja, 72 para suco de soja sabor maçã e para sabor laranja, 65 compostos apresentaram resultados adequados. As curvas foram preparadas na matriz e a maioria apresentou $r^2 > 0,99$ na faixa entre 0,5 e 20 µg/L. O método utilizado pode ser aplicado para análise de rotina em bebidas à base de soja, pois é rápido, de fácil execução e apresentou resultados de validação satisfatórios.

Agradecimentos: CAPES, CNPq e FINEP.

DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM MEL EMPREGANDO UHPLC-MS/MS

Débora Orso, Maiara P. de Souza, Osmar D. Prestes,
Manoel L. Martins, Martha B. Adaime e Renato Zanella*

*Laboratório de Análise de Resíduos de Pesticidas - LARP, Departamento de Química,
Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, RS*

**rzanella@base.ufsm.br*

O mel é um produto natural amplamente consumido devido ao seu alto teor nutricional. No entanto, essa matriz pode ser contaminada por diversas substâncias nocivas, que podem ocasionar efeitos adversos à saúde. Os agrotóxicos são comumente encontrados no mel uma vez que são utilizados na agricultura para aumentar a produção. O mel consiste em 70% de monossacarídeos, 7% de oligossacarídeos e cerca de 20% de água além de outros compostos que totalizam aproximadamente 300 substâncias. Por se tratar de uma matriz complexa, a análise de agrotóxicos em mel exige um estudo das melhores condições de análise para determinar estes contaminantes presentes em baixas concentrações. A UHPLC-MS/MS é uma das técnicas mais empregadas na determinação desses compostos, visto que possui alta seletividade e sensibilidade. Nesse estudo foram otimizadas condições de separação para análise de resíduos de agrotóxicos em amostras de mel, realizando testes com diferentes colunas cromatográficas, gradiente da fase móvel e fonte de ionização. Foram avaliadas as colunas: Acquity UPLC BEH C18, 50 x 2,1 mm x 1,7 µm; Acquity UPLC BEH C18, 100 x 2,1 mm x 1,7 µm; Pursuit XRs C18, 150 x 2 mm, 5 µm e Pursuit XRs C18, 50 x 2 mm, 5 µm. No gradiente da fase móvel foram testados: água com 0,05% (v/v) de NH₄OH e metanol ou acetonitrila com 0,05% (v/v) de NH₄OH. Na fonte de ionização foram testadas temperaturas de dessolvatação de 450 °C e 500 °C. Realizou-se a injeção de 13 compostos representativos de diferentes classes em duas condições sendo 8 combinações em cada uma, totalizando 16 testes. Os melhores resultados foram obtidos utilizando gradiente da fase móvel de NH₄OH 0,05% em solução aquosa e metanol, vazão de 0,2 mL/min com coluna Acquity UPLC BEH C18, 100 x 2,1 mm e 1,7 µm e ESI (+) e fonte de ionização a 500 °C. A linearidade do instrumento foi de 0,5 a 50 µg/L, com $r^2 \geq 0,99$. O preparo da amostra foi efetuado empregando o método QuEChERS acetato, seguido por uma etapa de clean-up com MgSO₄ e PSA. Os estudos de recuperação em três níveis de fortificação (1, 5 e 10 µg/kg) apresentaram valores entre 71 e 120% para os 83 compostos avaliados, com RSD $\leq 19\%$. Os limite de detecção e quantificação do método foram de 0,3 e 1 µg/kg, respectivamente. Os resultados indicaram que o método proposto pode ser aplicado para determinação de resíduos de agrotóxicos em mel.

Agradecimentos: CNPq, CAPES, FINEP/SIBRATEC-RENALI.

DETERMINAÇÃO MULTICLASSE DE RESÍDUOS DE MEDICAMENTOS VETERINÁRIOS EM RIM E FÍGADO BOVINO

Tiele M. Rizzetti, Maiara P. de Souza, Osmar D. Prestes,
Martha B. Adaime e Renato Zanella*

*Laboratório de Análise de Resíduos de Pesticidas, Departamento de Química,
Universidade Federal de Santa Maria, 97105900, Santa Maria, RS.
rzanella@base.ufsm.br*

Os medicamentos veterinários são amplamente utilizados na criação de bovinos pois apresentam princípios terapêuticos e profiláticos que garantem a manutenção do rebanho na pecuária. No entanto, os resíduos dessas substâncias bem como seus metabólitos podem contaminar alimentos de origem animal, ocasionando efeitos adversos à saúde do consumidor. Tendo em vista a importância de determinar as diferentes classes contaminantes presentes em alimentos, o objetivo deste trabalho foi desenvolver e validar um método analítico para determinação multiclasse (sulfonamidas, fluoroquinolonas, lincosamidas e avermectinas) de resíduos de medicamentos veterinários em rim e fígado bovino por UHPLC-ESI-MS/MS. O procedimento de preparo da amostra consistiu em testar diferentes volumes de acetonitrila, adição de Na₂EDTA e variações na concentração de ácido tricloroacético (TCA). O método otimizado baseou-se na extração de 1 g de amostra com 2 mL de acetonitrila e 500 µL de TCA. Após, realizou-se a etapa de centrifugação (10000 rpm) por 4 min e filtração (0,2 µm). Empregou-se para a determinação dos analitos um sistema UHPLC-ESI-MS/MS operando no modo de monitoramento de reações selecionadas (SRM). A eluição foi realizada no modo gradiente utilizando como fase móvel água e acetonitrila, ambas com 0,1% (v/v) ácido fórmico. A validação do método foi realizada através dos limites de detecção (LOD) e de quantificação (LOQ), CC α e CC β , efeito matriz, linearidade, precisão e exatidão. Os níveis de fortificação 10, 20 e 40 µg/kg foram avaliados em cinco replicatas. Matrizes complexas como fígado e rim bovino possuem efeito matriz pronunciado, assim o mesmo foi avaliado através da comparação do sinal analítico em solvente e na matriz. Os compostos analisados apresentaram supressão do sinal analítico. Dessa forma, a fim de compensar este efeito, foi preparada a curva analítica da matriz branca fortificada. A linearidade do instrumento foi de 1,25 a 25 µg/L (corresponde de 5 a 100 µg/kg na amostra) para a maioria dos compostos em estudo, com $r^2 \geq 0,99$. Os limites de detecção e quantificação do método foram de 3 e 10 µg/kg, respectivamente. Nos três níveis avaliados, todos os compostos apresentaram recuperação entre 81,3 e 117,9% para a matriz rim e entre 72,6 e 111,5% para fígado, com RSD <20%. Os valores de CC α e CC β variaram de 14,3 a 33,4 µg/kg e 18,7 a 58,8 µg/kg, respectivamente. O preparo de amostra proposto para a determinação de 12 resíduos de medicamentos veterinários de diferentes classes químicas em rim e fígado bovino foi adequado e o uso de UHPLC-ESI-MS/MS mostrou ser seletivo e sensível.

Agradecimentos: CNPq, CAPES e FINEP.



MÉTODO RÁPIDO PARA DETERMINAÇÃO MULTIRRESÍDUO DE AGROTÓXICOS EM CERVEJA POR UHPLC-MS/MS

Nelson M. G. Bandeira, Lucila C. Ribeiro, Manoel L. Martins,
Martha B. Adaime, Renato Zanella, Osmar D. Prestes*

*Laboratório de Análises de Resíduos de Pesticidas, Departamento de Química,
Universidade Federal de Santa Maria, 97105-900, Santa Maria-RS, Brasil
osmar.prestes@ufsm.br*

O uso de agrotóxicos apresenta benefícios quando se trata do aumento da produção agrícola. Entretanto, o uso indiscriminado pode por em risco a saúde humana e, a determinação de resíduos destes compostos em alimentos e bebidas é de grande importância. O processamento de alimentos e bebidas pode reduzir os níveis de resíduos, porém a presença destes compostos está relacionada ao respeito às boas práticas agrícolas. O objetivo deste trabalho foi desenvolver um método para determinação multirresíduo de agrotóxicos em cerveja utilizando o método QuEChERS e determinação por UHPLC-MS/MS (ESI+) no modo de monitoramento de reações selecionadas (SRM). Durante a etapa de preparo de amostra, 10 mL de cerveja foram adicionados ao tubo de extração de 50 mL e extraídos com 10 mL de acetonitrila contendo 1% ácido acético (v/v) e agitados manualmente por 1 min. Para promover a etapa de partição e efeito salting-out adicionou-se sulfato de magnésio anidro e acetato de sódio, seguidos de agitação manual por 1 min. O extrato foi centrifugado a 3600 rpm por 8 min e 2 mL do sobrenadante foi submetido a etapa de limpeza por d-SPE utilizando sulfato de magnésio anidro e C18. Os tubos foram centrifugados por 8 min a 3600 rpm. O extrato obtido foi filtrado e diluído 5 vezes em água antes da injeção. A exatidão e precisão do método foram avaliadas através de ensaios de recuperação nos níveis de 25, 50 e 100 µg/L. O efeito matriz foi avaliado através da razão entre a inclinação da curva analítica preparada em solvente e a preparada no extrato branco da matriz. A maioria dos compostos avaliados apresentaram recuperação entre 70,1 e 116% com RSD entre 0,5 e 18%. Na avaliação do efeito matriz, apenas 28 de um total de 95 compostos apresentaram efeito menor do que 20%, indicando a necessidade de utilizar a curva analítica em matriz. O método desenvolvido apresenta como vantagens a rapidez e facilidade de execução. Os resultados obtidos demonstram a aplicabilidade do método para análises de rotina.

Agradecimentos: CNPq, CAPES e Finep.

DETERMINAÇÃO MULTICLASSE DE RESÍDUOS DE MEDICAMENTOS VETERINÁRIOS EM CARNE OVINA POR UHPLC-MS/MS

Nelson M. G. Bandeira, Luana Floriano, Manoel L. Martins,
Martha B. Adaime, Renato Zanella, Osmar D. Prestes*

*Laboratório de Análises de Resíduos de Pesticidas, Departamento de Química,
Universidade Federal de Santa Maria, 97105-900, Santa Maria-RS, Brasil
osmar.prestes@ufsm.br*

A presença de resíduos de medicamentos veterinários em produtos de origem animal pode ser nociva à saúde humana. Cuidados no uso profilático e terapêutico destes medicamentos podem garantir a saúde do animal e também a ausência de resíduos no produto final. Porém, o uso indiscriminado destes compostos, com o objetivo de garantir alta produção, faz necessário o desenvolvimento de métodos analíticos para a determinação de resíduos de medicamentos veterinários. Ao longo dos anos o método de extração QuEChERS vem sendo amplamente utilizado na determinação de resíduos e contaminantes em vários tipos de alimentos de origem vegetal e animal. Os medicamentos veterinários apresentam diferentes características físico-químicas. Assim, os métodos aplicados devem ser capazes de apresentar resultados confiáveis para compostos com diferentes propriedades como polaridade, massa molecular, potenciais de ionização, etc. Desta forma, alguns experimentos devem ser realizados para otimizar as condições experimentais, buscando respostas analíticas suficientes para atender os limites máximos estabelecidos. Métodos empregando superfícies de resposta tem sido utilizados para otimização de parâmetros de maneira satisfatória e visualmente simples. Portanto, o objetivo do presente trabalho foi a aplicação de um planejamento fatorial 2^2 com ponto central para visualização das melhores condições gerais de duas variáveis: a concentração de EDTA e fração de metanol utilizada em acetonitrila como solvente orgânico extrator do método QuEChERS original. Analisando as superfícies de resposta, observou-se que as melhores condições de extração, foram obtidas empregando EDTA 6 mmol/L e proporção de ACN:MeOH 97:3 (v/v). Curvas analíticas preparadas em solvente e no extrato da matriz foram obtidas entre 0,5 e 20 $\mu\text{g/L}$ e a maioria compostos apresentou $r^2 > 0,99$. Observou-se efeito matriz $>20\%$ para a maioria dos medicamentos veterinários avaliados e assim empregou-se curva preparada no extrato da matriz. Exatidão e precisão foram avaliadas através de ensaio de recuperação de amostras branco fortificadas em 25, 50 e 100 $\mu\text{g/kg}$. Obteve-se recuperações entre 77% e 120% com $\text{RSD} \leq 14,6\%$ para todos os compostos avaliados. O método desenvolvido permite a determinação de resíduos de diferentes classes (sulfonamidas, avermectinas, quinolonas, organofosforados, etc) de medicamentos veterinários e pode ser aplicado em laboratórios de análise de rotina.

Agradecimentos: CNPq, CAPES e FINEP.



AValiação e Caracterização de um Polímero Molecularmente Impresso para Determinação de Sulfoniluréias

Felipe Nascimento Andrade, Álvaro José dos Santos Neto, Fernando Mauro Lanças

Laboratório de Cromatografia, Instituto de Química de São Carlos,

Universidade de São Paulo, São Carlos-SP, Brasil

felipe_nandrade@yahoo.com.br

A partir da metade do século XX, devido ao crescente desenvolvimento na produção agrícola, aumentou-se a aplicação de herbicidas nas lavouras, dentre eles as sulfoniluréias, que podem causar sérios riscos à saúde humana e ao meio ambiente. Pelo fato das baixas concentrações de sulfoniluréias no ambiente, torna-se necessário o emprego de materiais seletivos empregados para o preparo de amostras. Nesse âmbito, merece destaque o conceito de tecnologia de impressão química, em especial os polímeros molecularmente impressos (MIP, do inglês *Molecularly Imprinted Polymers*). Os MIPs têm sido utilizados como sorventes em sistemas de pré-concentração para aplicação em diversas matrizes, apresentando como principais vantagens: alta seletividade, baixo custo e fácil preparo na síntese. O objetivo desse trabalho foi a síntese, caracterização dos polímeros sintetizados para classe das sulfoniluréias, avaliação da seletividade e a comparação com outros sorventes comercialmente disponíveis. O material impresso foi sintetizado usando ácido metacrílico, etileno glicol dimetacrilato, 2,2 azobisbutonitrila e bensulfuron foi utilizado como *template*. Como controle, um polímero foi preparado em condições iguais, mas sem a adição do *template* denominado polímero não impresso (NIP, do inglês, *non-imprinted polymers*). Os polímeros foram caracterizados por microscopia eletrônica de varredura e infravermelho. O coeficiente de seletividade (k') foi calculado através da comparação entre MIP e NIP, que foram avaliados com o estudo de soluções binárias de bensulfuron/betazon e bensulfuron/prometon, onde os valores de k' obtidos foram 10,6 e 8,5, respectivamente. Após otimização do MIP avaliou-se uma comparação entre o NIP e com outras fases comercialmente disponíveis (STRATA X, C18, HLB Oasis). Os resultados de recuperação pode se observar que o MIP foi o que apresentou uma recuperação mais eficiente em torno de 96-101%, enquanto para o NIP (76,1-32,6%), STRATA X (73,0-27,6%), C18 (54,8-19,7%) e HLB Oasis (64,0-17,9%).

Agradecimentos: Processo FAPESP 2011/09898-4; CNPq e CAPES.

EXTRAÇÃO DE SAs EM LEITE POR SPE ON-LINE UTILIZANDO LÍQUIDOS IÔNICOS

Meire Ribeiro da Silva, Álvaro J. dos Santos Neto, Fernando M. Lanças

Laboratório de Cromatografia, Instituto de Química de São Carlos,

Universidade de São Paulo, São Carlos, Brasil

meire@iqsc.usp.br

Dentre os alimentos mais consumidos no mundo destaca-se o leite, sendo o Brasil o quarto maior produtor mundial. Com isso houve o crescimento do uso de medicamentos veterinários no gado leiteiro com objetivo profilático, na tentativa de evitar a mastite, incluindo antimicrobianos como a classe das sulfonamidas (SAs). A presença de resíduos de SAs pode interferir na saúde do homem ocasionando reações alérgicas, além de resistência antibiótica. Deste modo, métodos eficientes de extração, pré-concentração e detecção de baixa concentração de SAs são exigidos pelos órgãos regulamentadores a fim de garantir a segurança alimentar da população. O emprego de técnicas de pré-concentração tem se tornado de fundamental importância a fim de garantir um clean-up da amostra e a pré-concentração dos analitos. A SPE *on-line* destaca-se devido análises rápidas, baixo consumo de solvente, menor exposição dos analistas aos solventes tóxicos, assim como maior precisão analítica e automação das análises. Aliado a isso, torna-se necessário o desenvolvimento de novas fases extratoras mais seletivas e de baixo custo. Líquidos iônicos (ILs) têm sido utilizados para a imobilização de superfícies de materiais, tal como sílica com ILs ou na polimerização de materiais com ILs, pois tem apresentado sucesso como material adsorvente e seletivo. Neste trabalho empregou-se sílica funcionalizada por líquido iônico ($[C_4MIM][PF_6]$) como sorbente seletivo a fim de permitir o isolamento e a pré-concentração das SAs de interesse utilizando SPE *on-line* em leite bovino. As variáveis de extração das SAs em leite bovino estudadas foram pH e tipo de solvente de extração, sendo que a melhor condição foi pH 3,0 e solvente de extração acetonitrila (ACN) acidificada. O sorbente baseado em sílica e $[C_4MIM][PF_6]$ foi avaliado em SPE *on-line* e otimizada. Utilizou-se planejamento de experimento fracionário 2^3 a fim de otimizar os principais parâmetros que afetam a SPE *on-line* tais como tempo de eluição, tempo de pré-concentração e porcentagem de eluente. Sendo que as condições otimizadas foram 4min, 3min e 80:20 (ACN:H₂O 0.1% HAC), respectivamente. Além disso, outros parâmetros como: fluxo do eluente, volume de injeção e tamanho da coluna de extração foram avaliados de forma univariada. O estudo de recuperação realizado em amostras de leite bovino proporcionou uma média de recuperação em torno de 82-110%, o que demonstra resultados satisfatórios quando comparados à fase C18.

Agradecimentos: Capes, CNPq, FAPESP Proc. 2012/22055-9.

ROOT CAUSE DETERMINATION OF MATRIX EFFECTS IN LC/HRMS ESI

James Chang, Ph.D., Paul Yang, Ph.D.

355 River Oaks Parkway, San Jose, CA 95134

Ontario Ministry of the Environment, Laboratory Services Branch,

125 Resources Road, Etobicoke, Ontario M9P

james.chang@thermo.com

The matrix effects in liquid chromatography-electrospray ionization-mass spectrometry (LC-ESI-MS) analysis affect the accuracy of results, are difficult to compensate for and present a major challenge in environmental and food safety analysis. An understanding on the root cause of the matrix effects allows for the implementation of viable approaches during the method development stage to resolve matrix effects in routine LC-MS analysis. Using calibration standards of 381 pesticides prepared in solvent and five different sample matrices as model samples, studies were performed to evaluate the relationship between analyte concentrations and sample matrices using high performance and micro-flow liquid chromatography-ESI-high resolution mass spectrometry (HRMS); and the elution patterns of target compounds and matrix components under various chromatographic conditions. Results obtained from the principal component analysis and slope ratios of calibration curves provided quantitative measurements of the matrix effects. This study demonstrated that sample dilution is an effective approach to alleviate matrix effects for pesticides co-eluting with low concentration matrix components. Severe matrix effects, however, may still be observed for some pesticides in 1000x diluted samples should concentrations of these co-eluting matrix components are 50- to 100-fold higher than the corresponding/affected pesticides. Optimizing LC and MS parameters to ensure effective peak concentration of co-eluting pesticides and matrix components allows for the development of routine multi-residual method with minimal matrix effects. It is possible to replace routine cleanup procedure by a dilute-and-shoot approach for improved data quality and operational efficiency. The optimized method can be used as is or be transferred to an alternate LC-MS system for routine, quantitative multi-residue analysis free from matrix effects not only for pesticides, but for other organic contaminants such as veterinary drugs, mycotoxins, pharmaceuticals and personal care products in environmental and food sample matrices.

MICRO FLOW LC AND ITS APPLICATION ON FOOD SAFETY ANALYSIS

James Chang, Ph.D.

Thermo Scientific, 355 River Oaks Pky, San Jose, CA 95134

james.chang@thermo.com

Micro Flow LC (MFLC)/ESI Q-Orbitrap was explored its applicability for analysis of pesticides using 1/1000 dilution to minimize matrix effects and increase sensitivity. MFLC/ESI Q-Orbitrap can provide low ppt sensitivity and is suitable for this 1/1000 dilution approach and still can achieve the most of regulatory requirement on pesticide within 10 ppb analysis in nine sample matrices. Nano flow LC (NFLC) was widely used for proteomic analysis in the past decades, the sensitivity is increased and as well as the reduction of the matrix effect. NFLC was explored couple years ago for food sample multi-residue analysis in our laboratory. The sensitive was superb, can easily achieved to parts per trillion (ppt) range, however, due to the column capacity and the complication of the sample matrices, the reproducibility of the results were in question and further investigation was needed. With new instrument technology on Micro Flow LC system which provides the need for the sensitivity and robustness on food safety analysis, since it can be shared with the common column packing material such as Hypersil Gold 1.9 μm with 1 X 100 mm column or smaller to the 0.32 mm ID column. This study demonstrated that sample dilution is an effective approach to alleviate matrix effects for pesticides co-eluting with low concentration matrix components. Severe matrix effects, however, may still be observed for some pesticides in 1000x diluted samples should concentrations of these co-eluting matrix components are 50- to 100-fold higher than the corresponding/affected pesticides.



AUTOMATION OF GPC, SPE AND QUECHERS SEPARATION OF CONTAMINANTS IN FOOD

Stevens J.¹, Crawford M.¹, Halvorson M.¹, Kowalski J.², Misselwitz M.², Fecho R.³

¹Gilson Inc., USA, ²Restek, USA, ³Nova Analítica, SP, Brazil

ricardo.fecho@novanalitica.com.br

Several techniques for the separation of targets from complex matrices are used today before the chromatographic analyses. Gel Permeation Chromatography (GPC), Solid Phase Extraction (SPE) and QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe extraction technique) can be used for this purpose. Each technique provides strengths for the separation of targets. GPC has the ability to process large amounts of sample, SPE provides disposable cartridges with numerous sorbents to provide separation of the analyte from the matrix, and QuEChERS involves uncomplicated sample cleanup. This work investigates each of these separation techniques in separating pesticides from oil matrices (olive oil) and presents detailed information on the automation of each separation system. The GPC sample used was olive oil, 50 mg/L in dichloromethane. This was injected onto the GPC column and the fraction collected, and dried down. The SPE sample used was olive oil in hexane 50:50. This sample was extracted using Liquid Liquid Extraction (LLE) with acetonitrile (ACN). The ACN extract was placed on the SPE and eluted with ACN then dried down. The QuEChERS sample used was olive oil in hexane 50:50. This sample was extracted using LLE with ACN. The ACN extract was placed on the SPE and eluted with ACN then dried down. All dried down samples were brought up in 200 µL of hexane or ethyl acetate for injection on the GC. Twenty pesticide standards were used to construct analytical curves. Recovery of the methods was determined. The GPC method attained recoveries of >95% for all the pesticide analytes. The QuEChERS and SPE methods attained a recovery of 70% to 80%. The GPC method attained the lowest detectable limits at 3.3 times that of SPE and 10 times that of the QuEChERS extraction method. All methods attained levels of 25 µg/mL of each pesticide and extrapolated a possible low detectable limit of 5 µg/mL for QuEChERS, 1.7 µg/mL for SPE and 400 ng/mL for GPC.

THE USE OF HIGH-DEFINITION TD-GC-TOF MS FOR CHALLENGING ANALYSES IN THE FOOD INDUSTRY

L. McGregor¹, N. Bukowski¹, B. Green¹, L. Pollack¹,
P. Morris¹, M. Bates¹ and J. César²

(1) Markes International, Gwaun Elai Medi-Science Campus, Llantrisant,
RCT, CF72 8XL, UK; (2) Nova Analítica, São Paulo, SP, BR
julio.cesar@novanalitica.com.br

Aroma profiles of food contain a wide variety of components at a range of concentrations. Detection and identification of keynote compounds with a low odour threshold and those responsible for off-odours is a challenging prospect. The use of high-definition gas chromatography with time-of-flight mass spectrometry (GC-TOF MS) combined with thermal desorption offers an ideal solution for routine analysis. Fast acquisition speeds and low detection limits allow trace components, including adulterants, to be identified even within the most challenging of matrices. Thermal desorption (TD) can bring the added advantage of retaining part of the sample for re-analysis; allowing confident and secure repeat analysis, especially when combined with tagged TD tubes which reliably store and transfer valuable information on the provenance of each sample. An overview of this novel TD-GC-TOF MS system is presented using case-studies on aroma profiling of food products. Aroma profiles from bulk food samples were extracted using a micro-chamber/thermal extractor, which facilitates minimal sample preparation, saving both time and expense. A regulated flow of purge gas is supplied to each sealed, temperature-controlled chamber. This extracts the volatiles via a dynamic headspace process, allowing them to be collected on a TD sample tube inserted into the micro-chamber lid. VOCs desorbed from the thermal desorption tubes were analysed by GC-MS. Parallel analyses were run using micro chamber-TD-GC-quadrupole MS system and a micro chamber-TD-GC-TOF MS system to compare the differences. Clearly, the results demonstrate the greater number of trace compounds that can be detected and identified using TOF MS compared to quadrupole MS. The collection of full spectral information at low detection levels also enables users to re-examine stored data for new target species (such as allergens, toxins and olfactory components) should the need arise.



MÉTODO MULTIRRESÍDUO PARA DETERMINAÇÃO DE AGROTÓXICOS EM UVA EMPREGANDO UHPLC-MS/MS

Mariele M. Mann, Lucila C. Ribeiro, Danieli D. Bandeira,
Eduardo P. Nunes, Osmar Prestes, Renato Zanella, Martha B. Adaime*

*Laboratório de Análises de Resíduos de Pesticidas, Universidade Federal de Santa Maria,
Departamento de Química, 97105-900 Santa Maria - RS, Brasil
adaimeccne@yahoo.com.br*

A viticultura brasileira ocupa uma área de 81 mil hectares, com vinhedos desde o extremo Sul até regiões próximas à Linha do Equador. Embora a produção de vinhos, suco de uva e derivados também ocorra em outras regiões, a maior concentração está no Rio Grande do Sul, responsável por aproximadamente 777 milhões de kg de uva por ano e uma média anual de 330 milhões de litros de vinhos e mostos. O cultivo da uva constitui uma atividade econômica significativa, sendo uma fruta muito consumida tanto na forma in natura quanto processada. Considerada uma das maiores fontes de flavonóides, apresenta importante atividade antioxidante e, conseqüentemente, grande utilidade para a nutrição e saúde humana. O cultivo comercial demanda aplicações frequentes de agrotóxicos para controlar doenças e pragas. Os resíduos devem ser monitorados uma vez que os regulamentos e normas de segurança alimentar estão se tornando mais rigorosos na maioria dos países. O objetivo deste trabalho foi otimizar um método multirresíduo para a determinação de 22 agrotóxicos em uva empregando método QuEChERS modificado e Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência acoplada à Espectrometria de Massas em Série (UHPLC-MS/MS). O preparo de amostra consistiu na extração de 10 g de uvas processadas com 10 mL de acetonitrila contendo 1% (v/v) de ácido acético. Para a etapa de partição adicionou-se sulfato de magnésio anidro e acetato de sódio. A limpeza do extrato foi realizada por d-SPE com sulfato de magnésio anidro e amina primária secundária (PSA). A análise cromatográfica foi realizada utilizando coluna Acquity UPLC BEH C18 (50 x 2,1 mm d. i.; 1,7 µm). Empregou-se fase móvel (A) água/metanol 98:2 (v/v) com 0,1% (v/v) de ácido fórmico e formiato de amônio 5 mmol/L e (B) metanol com 0,1% (v/v) de ácido fórmico e formiato de amônio 5 mmol/L, com vazão de 0,225 mL/min e volume de injeção de 10 µL. A linearidade foi determinada através da curva analítica entre 2 e 50 µg/L e a recuperação foi avaliada em três níveis de fortificação (5, 10 e 50 µg/kg) apresentando valores entre 76 e 123% com RSD menor que 19%. O método apresentou LOD de 1,5 µg/L e LOQ de 5 µg/L. O emprego de QuEChERS modificado aliado à UHPLC-MS/MS mostrou-se adequado para a determinação de resíduos de agrotóxicos em uva.

Agradecimentos: CNPq, CAPES e FINEP.

USE OF TRIPLE QUADRUPOLE GC-MS/MS AS A CONFIRMATORY METHOD FOR PCDD/Fs IN FOOD AND FEED SAMPLES

Cristian Cojocariu¹, Manuela Abalos², Esteban Abad Holgado²,
Paul Silcock¹, Angela De Pietro³

¹Thermo Fisher Scientific, UK; ²Spanish Council for Sc. Research,
Inst. Environ. Asses. and Water Research, ES, ³Nova Analítica São Paulo, SP, BR
angela.pietro@novanalitica.com.br

Polychlorinated dibenzo-p-dioxins (PCDDs) and polychlorinated dibenzofurans (PCDFs) constitute a group of highly toxic organic compounds formed unintentionally, mainly in waste combustion processes or as by-products of industrial manufacturing of certain chemicals, such as chlorinated pesticides. PCDD/Fs can enter the food chains where they persist and bioaccumulate. Human exposure to dioxins occurs mostly from ingesting contaminated food. PCDD/Fs have been characterized by the US Environmental Protection Agency as likely to be carcinogenic to humans even at background levels of exposure. Consequently, accurate detection and quantification of PCDD/Fs in the environment, particularly in food and animal feed, is important. Legislation in the European Union previously required the confirmation and quantification of PCDD/Fs in contaminated samples by gas chromatography/high resolution mass spectrometry (GC-HRMS) instruments, considered the “gold standard” approach. However, recent technological advances in gas chromatography/triple-quadrupole mass spectrometry (GC-MS/MS) technology have allowed high sensitivity and selectivity to be achieved. These improvements have led to GC-MS/MS being considered a reliable tool that can be used to control the maximum levels for PCDD/Fs in food and feed as a full confirmatory method. According to new EU regulation, when using GC-MS/MS the following specific performance criteria for dioxin confirmation with GC-MS/MS technology should be fulfilled in addition to the criteria described previously by the European Commission (except the obligation to use GC-HRMS): 1. Resolution for each quadrupole to be set equal to or better than unit mass resolution; 2. Two specific precursor ions should be used; 3. Maximum permitted tolerance of relative ion intensities of $\pm 15\%$ for selected transitions. In this work, the performance of a new triple quadrupole GC-MS/MS system for the analysis of PCDD/Fs was assessed. For this, both solvent standards, and food and feed samples were used to evaluate the instrument performance against the new criteria for dioxin confirmation. Additionally, a direct comparison of the results obtained from food and feed sample extracts using the new GC-MS/MS system with those from a GC-HRMS was made. The results of this evaluation demonstrate that the new GC-MS/MS system is a very effective tool for routine analysis of PCDD/Fs meeting all the new European Commission requirements for the confirmation of dioxins in food and feed samples. The results demonstrate that the system is highly sensitive and selective for confidently use for PCDD/Fs detection and confirmation in food and feed samples. The reproducibility, linearity, sensitivity, and selectivity data were obtained in all the experiments performed with standards and sample extracts.

The authors thank Brock G. Chittim from Wellington Laboratories Inc. for providing the EPA 1613 calibration standards.



ESTUDO DE VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA ANALÍTICA PARA ANÁLISE DE HPA EM CAFÉ

Luiz Severo Silva Junior¹, Carlos Francisco Pedroso² e Carlos Ricardo Soccol³

¹Professor Doutor / Pesquisador da Universidade Estadual de Feira de Santana. Dep.Tecnologia.
Av. Transnordestina, s/n. CEP:44036-900. Feira de Santana-BA – Brasil. severo@uefs.br

²Pesquisador Sênior da IMCOPA. Av. das Araucárias, 5899. CEP: 83707-000 Araucária - PR – Brasil

³Professor Doutor / Pesquisador da Universidade Federal do Paraná.
Departamento de Engenharia Química. CEP: 81531-990 Curitiba - PR- Brasil. soccol@ufpr.br

A presença de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) em café, tem sido relatada com indicativo da degradação de compostos presentes no grão, durante a etapa de torrefação acentuada, que devido à sua elevada toxicidade, a análise quantitativa é de primordial importância. No entanto, devido à reduzida solubilidade desses compostos, as suas concentrações nos alimentos deverão apresentar níveis reduzidos. Como consequência, são necessários métodos analíticos sensíveis e confiáveis para obter valores abaixo dos limites máximos de resíduos, estabelecidos pela Legislação. O objetivo deste estudo foi validar um método analítico eficiente, para determinar esses microcomponentes orgânicos em amostras de café. A determinação dos HPAs foi conduzida por CLAE, sendo avaliados os padrões de benzo(a)antraceno (B(a)A), benzo(k)fluoranteno (B(k)F), benzo(e)acefenatileno (B(e)A) e benzo(a)pireno (B(a)P), que segundo o IARC (Institute Agency of Research Cancer), são comprovadamente carcinogênicos em animais experimentais. A separação foi realizada em CLAE-FR C₁₈ Symetry 150x4,6mm, 5um, com eluição gradiente. Os parâmetros validados foram avaliados em triplicata, onde verificou-se uma boa seletividade, pois não houve influencia de outra substância na medição pelo detector. Os valores de coeficiente de correlação foram: benzo(a)antraceno (B(a)A): 0,9956, benzo(k)fluoranteno (B(k)F): 0,9968; benzo(e)acefenatileno (B(e)A): 0,9977 e benzo(a)pireno (B(a)P): 0,9977 e faixa linear (1,56 a 100 ng mL⁻¹). A recuperação para os HPAs foi avaliada em três níveis de concentração, que variou de 73 a 102%. Os limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ) foram 0,071ng mL⁻¹ e LQ=0,25ng mL⁻¹, respectivamente. A robustez foi realizada variando o fluxo da fase móvel e a temperatura da coluna. A precisão do método foi avaliada pelo coeficiente de variação, obtendo-se o valor de 10,83%, e desvio padrão relativo (DPR) de 11,52%. A estratégia que foi adotada para a determinação desses parâmetros esteve de acordo com o propósito e da natureza do método, que pode ser aplicado na quantificação dos HPAs analisados, em amostras de café, mesmo na presença de substâncias interferentes da matriz.

Agradecimentos. Os Autores agradecem ao apoio das agências financiadoras FAPESC e CNPq, para a realização desta pesquisa.

ESTUDO COMPARATIVO DA ANÁLISE DE HISTAMINA EM PESCADO POR MEIO DO KIT E CROMATOGRAFIA LÍQUIDA

Warley Pinheiro Evangelista, Edineia Xavier de Souza, Maria Beatriz A. Glória

*Laboratório de Bioquímica de Alimentos – Faculdade de Farmácia
Universidade Federal de Minas Gerais – 31270-901 – Belo Horizonte (MG)
mbeatriz@ufmg.br*

Kits comerciais para análise de histamina em pescado baseados em métodos de imunoenensaio tornaram-se populares devido a sua rapidez e simplicidade quando comparados à cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). O objetivo deste trabalho foi confirmar por meio da CLAE os teores de histamina detectados por esses kits. Quarenta e três amostras de atum enlatado foram analisadas pelo kit e posteriormente por CLAE. Para as análises com os kits, foram seguidas as instruções do fabricante, na qual a histamina foi extraída, diluída em tampão fosfato, e em seguida analisada em leitor de ELISA com um comprimento de onda de 650 nm. A leitura dos resultados foi realizada por comparativo com amostras controle. Para as análises por CLAE, a histamina foi extraída das mesmas amostras com ácido tricloroacético (5%) e, em seguida, analisada por CLAE-par iônico, com derivação pós-coluna com o-ftalaldeído e detecção fluorimétrica. A confirmação da presença da histamina foi realizada por co-eluição com padrão e, a quantificação, por interpolação em curva analítica. O kit de histamina é capaz de apresentar resultados que variam até ≥ 50 mg/kg. As 43 amostras analisadas foram separadas por níveis de histamina em dois grupos. Um grupo continha as amostras que tiveram níveis variando de não detectado (nd) até 49 mg/kg, e, o outro, com níveis de histamina acima de 50 mg/kg. Para as análises com o kit, 21% apresentaram níveis que variaram de nd a 49 mg/kg, e 79% apresentaram níveis de histamina acima de 50 mg/kg. Para as amostras analisadas por CLAE os resultados foram o oposto. Ou seja, 79% apresentaram níveis de histamina que variaram de nd a 49 mg/kg e 21% foram superiores a 50 mg/kg. Dos 79% das amostras analisadas pelo kit, apenas 23,5% foram confirmadas pela CLAE que os teores estavam acima de 50 mg/kg. Portanto, o kit superestimou os níveis de histamina em amostras de atum enlatado. Estes resultados mostraram a importância de utilizar a CLAE para análise de histamina, uma vez que esta técnica é mais eficiente que os kits, permitindo detectar níveis elevados de histamina no pescado. Os kits de histamina são um bom método para screening, mas deve haver um constante monitoramento dos resultados com a utilização da CLAE para evitar riscos à saúde do consumidor. A presença de histamina no pescado detectada pelos kits foi confirmada pela CLAE, porém houve variação nos teores encontrados.

Agradecimentos: CNPq, Fapemig, Finep.



APLICAÇÃO DE MÉTODO LC-MS/MS PARA ANÁLISE MULTIRRESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM ESPINAFRE

Fernanda Ribeiro Begnini, Isabel Cristina Sales Fontes Jardim

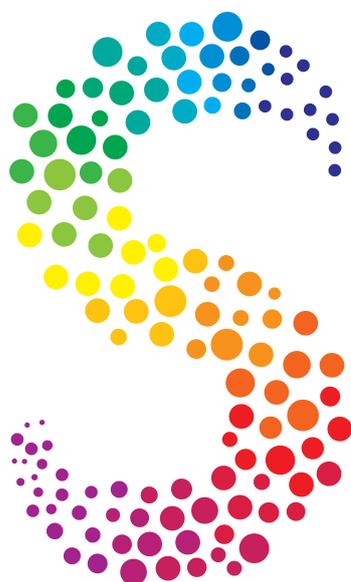
Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Caixa Postal 6154,

CEP 13084-971, Campinas - SP, Brasil

icsfj@iqm.unicamp.br

Um método multirresíduo para a determinação e quantificação de 16 agrotóxicos de diferentes classes e grupos químicos em espinafre foi desenvolvido, a fim de monitorar a qualidade desta hortaliça folhosa, uma vez que, nos últimos anos, muitos alimentos têm apresentado irregularidades quanto à presença de agrotóxicos, em limites acima do recomendável, conforme estudos realizados no Brasil pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). A separação, confirmação e quantificação dos resíduos de agrotóxicos em espinafre foram realizadas empregando a cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas sequencial (LC-ESI(+)-MS/MS), com analisador triplo quadrupolo. Para a extração dos agrotóxicos do espinafre, utilizou-se o método QuEChERS, empregando acetonitrila como solvente extrator, tampão citrato na etapa de particionamento e limpeza da amostra com os sais PSA, sulfato de magnésio e carbono grafitizado, condições estas previamente otimizadas. Estudos de recuperação, efeito matriz e quantificação de agrotóxicos em amostras adquiridas no comércio de Campinas-SP foram realizados. O efeito matriz, caracterizado por alterações na eficiência de ionização dos analitos, quando submetidos à análise na presença de componentes da matriz, foi avaliado por comparação do sinal analítico na matriz fortificada após a extração e em solvente, em dois níveis de fortificação. Para o espinafre, obtiveram-se porcentagens de recuperação dos agrotóxicos na faixa de 70 a 120%, com coeficientes de variação abaixo de 20%, valores aceitos pela literatura, de acordo com o guia de validação Documento SANCO/12571/2013. Verificou-se que todos os analitos apresentaram efeito matriz na faixa de $0 \pm 20\%$, podendo ser considerado um efeito matriz desprezível. A quantificação dos agrotóxicos em amostras adquiridas no comércio foi realizada através de curvas analíticas elaboradas em 5 níveis de concentração e agrotóxicos foram detectados em 75% das amostras analisadas.

Agradecimentos: FAPESP, CAPES, CNPq, INCTAA, Unicamp.



SEÇÃO I



IDENTIFICATION OF CUCURBITACIN E METABOLITES IN RAT URINE BY MASS SPECTROMETRY

Fiori, G. M. L.¹; Pereira, M. P. M.²; Rocha, A.; Pereira, A. M. S.³; Lopes, N. P.¹

¹*Nucleus for Research in Natural and Synthetic Product*

²*Laboratory of Pharmacokinetics and Metabolism-USP*

³*Biotechnology Unity of Medicinal Plant,UNAERP*

e-mail - giovanalanchoti@gmail.com

Cucurbitacins are polyhydroxylated triterpenes derived from several species of the Cucurbitaceae with medicinal properties known since antiquity. Dozens of cucurbitacins including types A, B, C, D, E, F,...T and more than 100 of their derivatives have been isolated and reported⁽¹⁾. Cucurbitacin E inhibits cancer cell proliferation, induces cell cycle arrest and apoptosis, inhibits angiogenesis and demonstrates anti-inflammatory activity. The anticancer potential of Cucurbitacin E has been validated in various cellular and animal models^(2,3). However, safety and efficacy of Cucurbitacin E have not been validated yet therefore higher doses and/or its continued use. The aim of this study was to identify the Cucurbitacin E metabolites in urine following i.p. administration to rats. Animal studies were conducted under the approval of the Animal Ethics Committee of the local institution. Wistar rats (n=6) in stainless steel rat metabolism cages received a single i.p. dose of cucurbitacin E (1mg/kg in saline) and urine samples (separately from feces) were collected over 0 to 20h after drug administration and stored at -20°C before analysis. Urine samples (100ul) were supplemented with 500ul 0.75N acetate buffer (pH 5.0) and shaken in a mixer for 30s. Ten mg of the enzyme (a mixture of B-glucuronidase/sulfatase) were then added and the samples were shaken continuously for 16h at 37°C. Urine samples were added with 0.1M aqueous NaOH solution to give pH 7.4 and the hydrolysates were extracted with 5.0ml methyl tert-butylether for 20min in a shaker (22+/-10 cycles/min). After centrifugation at 1800g for 10min, 4.6ml of the organic phases were transferred to clean tubes and evaporated to dryness. The residues were dissolved in 100ul methanol:water (1:1,v/v) and directly injected into the Q-TOF mass spectrometry equipped with an electrospray ionization source. The positive and negative full-scan mass spectrum were analysed to identify the structures. A few metabolites at low concentrations in the urine samples were found and identified. The main observed routes of Cucurbitacin E metabolism involve reduction and hydroxylation followed by sulfation and glucuronidation.

References

1-VALENTE, L. M. M. Cucurbitacins and their main structural characteristics. *Química Nova* 27(6): 944-948, 2004.

2-RIOS, J. L.; ESCANDELL, J. M.; RECIO, M. C. New insights into the bioactivity of cucurbitacins. *Studies in Natural Products Chemistry* 32: 429-469, 2005.

3-CHEN, X.; BAO, J.; GUO, J.; DING, Q.; LU, J.; HUANG, M.; WANG, Y. Biological activities and potential molecular targets of cucurbitacins: a focus on cancer. *Anti-Cancer Drugs*, 2012.

Financial support: FAPESP Process: 2012/14408-9.

POLIFENÓIS EM MICROCÁPSULAS DE EXTRATO DA TORTA DE CASTANHA-DO-BRASIL POR CLAE-EMAR/ESI-ORBITRAP

Gomes, S.¹; Pereira, H. M. G.¹; Sardela, V. F.¹; Finotelli, P. V.²; Torres, A. G.¹

¹Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ

²Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ

suellengomes@iq.ufrj.br

A torta de castanha-do-Brasil possui, além de alto teor de lipídios e proteínas, compostos fenólicos bioativos. A tecnologia de microencapsulamento é uma alternativa para potencializar a atividade destas substâncias, além de agregar valor a este co-produto do processamento da castanha. Técnicas cromatográficas acopladas a espectrometria de massas de alta resolução (EMAR) tem o potencial de proporcionar um conhecimento abrangente sobre os constituintes de matrizes complexas. O objetivo deste estudo foi avaliar a composição de microcápsulas do extrato da torta de castanha-do-Brasil, com ênfase nos compostos fenólicos potencialmente presentes. Os extratos foram obtidos por extração com solução etanólica da torta de castanha-do-Brasil. Estes foram microencapsulados por spray-drying, com inulina e Capsul® como materiais de parede. Os pós foram dissolvidos em água Milli-Q e as análises dos compostos fenólicos foram realizadas por CLAE-DAD e CLAE-EMAR (ESI-Orbitrap / QExactive – Thermo Scientific). A identidade dos picos dos compostos fenólicos foi confirmada por CLAE-EMAR, de acordo com o espectro de massas (intensidade vs. m/z) no modo negativo, o tempo de retenção do material de referência e o erro (<5 ppm) na massa exata do analito. A quantificação dos compostos foi realizada por curva de calibração externa. Por essa abordagem foram identificados e quantificados os seguintes compostos fenólicos: ácido gálico (1.59 mg/100g), ácido protocatecuico (5.64 mg/100g), catequina (19.01 mg/100g), p-hidroxibenzoico (8.94 mg/100g), 2,4-dihidroxibenzoico (1.09 mg/100g) e o ácido p-cumarico (3.27 mg/100g). Traços de ácido salicílico e dos flavonoides miricetina e quercetina também foram detectados. A análise dos cromatogramas obtidos sugere a presença de outros compostos fenólicos, não confirmados pela indisponibilidade de padrões analíticos. No entanto, através da técnica de CLAE-EMAR foi possível propor identidades tentativas para diversos componentes fenólicos, pela seguinte combinação de abordagens: i) massa exata (erro <5ppm) em comparação com bases de dados de compostos fenólicos já relatados em oleaginosas (Phenol Explorer); ii) proposta de fragmentação para as estruturas de compostos fenólicos candidatos. Com isto, foram tentativamente identificados 40 compostos fenólicos nas microcápsulas de castanha-do-Brasil que foram divididos entre as classes de ácidos fenólicos, flavonoides e ligninas. Conclui-se que o extrato da torta de castanha-do-Brasil microencapsulado apresentou importantes compostos fenólicos, pertencentes às classes químicas dos ácidos fenólicos e flavonoides e que a técnica de CLAE-EMAR foi uma importante ferramenta na investigação e identificação de componentes fenólicos da castanha-do-Brasil. Desta forma, essa potente ferramenta analítica permitiu o estudo da composição detalhada de componentes bioativos da torta de castanha-do-Brasil, agregando valor a esse co-produto.

Agradecimentos: CAPES, CNPq, FAPERJ, FUJB.



ISOLAMENTO DE METABÓLITOS SECUNDÁRIOS MINORITÁRIOS DE FOLHAS DE TETRADENIA RIPARIA POR CCC

Fabiana de Souza Figueiredo; Mariana Ferreira da Silva; Gilda Guimarães Leitão

Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Pesquisas de Produtos Naturais,

CCS - bloco H, Ilha do Fundão, Rio de Janeiro, RJ, 21941-902

fabiana.farmacia@gmail.com

A cromatografia contracorrente (CCC) é uma técnica cromatográfica do tipo partição líquido-líquido, na qual uma força centrífuga ou gravitacional é empregada para manter uma fase líquida dentro de uma coluna sem o auxílio de um suporte sólido, enquanto uma segunda fase, imiscível na primeira, passa pelo sistema cromatográfico. Como em qualquer cromatografia líquida, a observação da seletividade dos solventes é importante na escolha de uma fase móvel para se obter uma boa resolução dos analitos. Este trabalho teve como objetivo isolar os metabólitos secundários minoritários de *Tetradenia riparia*, uma espécie vegetal de origem africana rica em diterpenos. O extrato diclorometânico de folhas de *T. riparia*, obtido por maceração, foi fracionado por CCC com o sistema de solventes hexano - acetato de etila - metanol - água (HEMWat) 3:1,5:3:1,5; v/v, modo de eluição inverso, no aparelho Quattro HT Prep, coluna de 224 ml (3.2 mm d.i.), rotação de 850-860 rpm e fluxo de 4 ml/min. O fracionamento rendeu 15 frações (R1 a R15) e, devido a riqueza de substâncias, as frações R2, R3 e R4 foram repurificadas. No intuito de melhorar a seletividade do sistema HEMWat original, alterações em relação ao álcool (substituição do metanol por etanol) e/ou adição/substituição de acetona em relação ao acetato de etila foram feitas e as seguintes famílias de sistemas de solventes, em diversas proporções, foram testadas: (a) hexano - acetato de etila - metanol - água; (b) hexano - acetato de etila - etanol - água; (c) hexano - acetona - etanol - água; (d) hexano - acetona - metanol - água; e (e) hexano - acetato de etila - acetona - etanol - água. Assim sendo, R2 e R4 foram refracionadas com os sistemas hexano - acetona - etanol - água (1,5:2:1,5:2; v/v) e hexano - acetona - metanol - água (3:1,5:2,5:2; v/v), respectivamente, no aparelho P.C. Inc., coluna de 80 ml (1,6 mm d.i.), rotação de 850-860 rpm e fluxo de 2 ml/min, modo de eluição normal (cauda-cabeça); e a fração R3, com o sistema hexano - acetato de etila - acetona - etanol - água (1:1:1:1:1; v/v), no aparelho HT Prep, coluna de 98 ml (2,0 mm d.i.), rotação de 850-860 rpm e fluxo de 2 ml/min, modo de eluição normal (cauda-cabeça). Os fracionamentos de R2, R3 e R4 forneceram cada um uma substância isolada, S2 (4,7 mg), S3 (4,6 mg) e S4 (17,9 mg). A elucidação estrutural dessas substâncias está em andamento e os dados de RMN indicam a possibilidade de serem diterpenos. Os resultados mostram que modificações na composição do sistema original HEMWat possibilitaram melhorar a seletividade do mesmo no isolamento dos diterpenos de *T. riparia*, através da adição de um modificador de fase aquosa (acetona) e da substituição do álcool.

Agradecimentos: CAPES pela bolsa de estudos.

PERFIL CROMATOGRÁFICO DE TRÊS ESPÉCIES DE RUBIACEAE: BATHYSA AUSTRALIS, B. STIPULATA E B. GYMNOCARPA

Tatiane dos Santos C. Carvalho¹; Wilmer H. Perera Córdova²; Gilda Guimarães Leitão¹

¹Instituto de Pesquisa de Produtos Naturais (IPPN),
Universidade Federal Do Rio de Janeiro- LabFitoCCC

² Faculdade Farmácia-UFRJ
thathiane.carvalho@gmail.com

A família Rubiaceae é a quarta família mais representativa entre as Angiospermas. Abrange cerca de 13000 espécies e 650 gêneros, sendo distribuída principalmente nas regiões tropicais e subtropicais^[1,2]. Dividida em quatro subfamílias, as principais classes de produtos naturais produzidos são: iridóides, alcaloides indólicos, antraquinonas, triterpenos e derivados de ácidos fenólicos.^[1] No Brasil, o gênero *Bathysa* restringe-se apenas a Mata Atlântica, sendo popularmente conhecido como falsas quininas. Na medicina popular é utilizado no tratamento de anemias, caquexias, febres palustres, ancilostomíase, além de fornecerem matéria corante.^[2] O presente trabalho descreve o perfil cromatográfico por CLAE do extrato etanólico bruto de três espécies de Rubiaceae. Para este estudo foram coletadas, na Reserva Biológica do Tinguá, Rio de Janeiro, três espécies do gênero *Bathysa*: *B. australis*, *B. stipulata* e *B. gymnocarpa*. As folhas secas e moídas foram submetidas a percolação exaustiva com etanol 96°GL e após a eliminação do solvente obteve-se o extrato etanólico bruto. Os extratos foram submetidos à análise por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) em coluna de fase reversa C18. As análises foram realizadas utilizando-se um gradiente linear de MeOH: H₂O acidificada com TFA 20:80 até 80:20 em 30 minutos, 1 mL/min. Os cromatogramas foram obtidos com detecção UV/DAD a 250 nm. O cromatograma obtido do extrato bruto da *B. australis* apresentou 4 sinais majoritários com tempos de retenção TR em 6,91; 16,09; 18,62; 20,36 min, onde os espectros de UV dos três últimos sinais são compatíveis com flavonoides do tipo flavona ou flavonol. (λ max = 235 ; 273 ; 290; 351;265;345 nm respectivamente). O sinal em 6,91 min é característico de um derivado benzênico (λ max a 259;320 nm). O cromatograma obtido do extrato bruto da *B. stipulata* apresentou um sinal característico de flavonoide com tempo de retenção em TR 19,18 min (λ max = 262; 279;342 nm) e um sinal característico de fenilpropanoide com tempo de retenção em TR 6,93 min (λ max=261;330 nm) Para o extrato bruto da *B. gymnocarpa* o cromatograma apresentou sinais característicos de flavonoides com tempos de retenção em TR 16,86 min (λ max = 254; 312 nm) e 19,09 min. Através da CLAE/UV-DAD foi possível obter o perfil cromatográfico das três espécies. Em todas as espécies foi observado a presença de flavonoides, um dos grupos fenólicos mais importante e diversificado entre os produtos de origem natural.

REFERÊNCIAS:

[1] Brazilian Journal of Pharmacognosy, 2006,16(2),170-177.

[2] Germano Filho,P;1999. Estudo Taxonômico do Gênero *Bathysa* C.Presl no Brasil. Rodriguésia,50(76/77),49-75.

Agradecimentos: À Capes pelo auxílio financeiro.



CARACTERIZAÇÃO DE SESQUITERPENOS DE SINNINGIA LEUCOTRICHA (GESNERIACEAE) POR CG-MS

Maria Helena Verdan^{1*}, Dilamara Riva Scharf², Maria Élide Alves Stefanello¹

¹Departamento de Química, Universidade Federal do Paraná, Curitiba – PP

²Departamento de Química, Fundação Universidade de Blumenau, Blumenau - SC

mhelenaverdan@gmail.com

A família Gesneriaceae compreende 135 gêneros e cerca de 3000 espécies, distribuídas nas regiões tropicais e subtropicais do planeta. O principal gênero da família no Brasil é *Sinningia*, o qual possui 68 espécies, das quais 55 são endêmicas do país. *S. leucotricha* (Hoehne) Moore, conhecida como rainha-do-abismo, é uma espécie de pequeno porte, endêmica do estado do Paraná. Possui folhas cobertas por tricomas brancos que lhe dão uma aparência prateada, contrastando com flores vermelhas, tornando-a ótima como planta ornamental. Por esse motivo tem sido coletada extensivamente, colocando as populações naturais em risco. Em um estudo anterior, três substâncias foram relatadas em *S. leucotricha*: o sesquiterpeno ácido leucotrichóico, e os triterpenos hederagenina e ácido 23-hidroxiursólico. Visando aprofundar o conhecimento químico desta espécie, um novo fracionamento foi realizado. Tubérculos de *S. leucotricha* foram secos, moídos e extraídos em Soxhlet com éter de petróleo, diclorometano e acetona. O extrato em éter de petróleo foi fracionado por diversas técnicas cromatográficas, resultando no isolamento de um sesquiterpeno conhecido como presilphiperfolan-9-ol⁽¹⁾, juntamente com dois sesquiterpenos novos, 11-epi-subergorgiol⁽²⁾ e leucotrichol⁽³⁾. Todos foram identificados por RMN e massas, e possuem esqueletos carbônicos raros, do tipo triquinano. Sesquiterpenos são geralmente encontrados em misturas nos óleos essenciais, sendo identificados pela combinação das técnicas de cromatografia gasosa e espectrometria de massas, além de comparação com um banco de dados. O objetivo deste trabalho foi gerar dados para a identificação das substâncias 1-3 em mistura. Para isso, estas foram analisadas por CG-EM, nas condições habitualmente utilizadas para a identificação dos constituintes de óleos essenciais (coluna apolar e gradiente de temperatura). A análise dos cromatogramas mostrou que estas substâncias são bem separadas nas condições empregadas, mostrando tempos de retenção de 33,562, 37,056 e 37,694 minutos, respectivamente em uma coluna capilar RTX®-5MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm). Os índices de retenção, em relação a uma série de n-alcenos, foram 1516, 1606 e 1623. Este estudo demonstra que *S. leucotricha* produz sesquiterpenos em abundância, que podem ser identificados por CG-EM, facilitando análises posteriores.

Agradecimentos: Ao CNPq pelo apoio financeiro, pela autorização de acesso ao patrimônio genético e pela bolsa de estudos.

COMPARAÇÃO DOS PERFIS CROMATOGRÁFICOS DE SINNINGIA AGGREGATA E S. WARMINGII (GESNERIACEAE)

Maria Helena Verdan; Maria Élide Alves Stefanello

*Universidade Federal do Paraná, Departamento de Química,
Caixa Postal 19081, CEP 81531-990, Curitiba – PR
mhelenaverdan@gmail.com*

O gênero *Sinningia* é o principal da família Gesneriaceae no Brasil, representado por 67 espécies, sendo 55 endêmicas do país. *S. aggregata* (Ker-Gawl) Wiehler e *S. warmingii* (Hiern.) Chautems são ervas anuais, com tubérculo perene. Estudos anteriores mostraram que ambas acumulam antraquinonas, iridóides e hidronaftoquinonas. *S. aggregata* contém também glicosídeos fenólicos, e *S. warmingii* cromenos. O objetivo deste estudo foi traçar o perfil cromatográfico por CLAE-DAD do extrato etanólico total dos tubérculos das duas espécies, além das frações obtidas por partição e identificar as substâncias presentes. Tubérculos secos e moídos de *S. aggregata* e *S. warmingii* foram extraídos com etanol, separadamente, resultando nos respectivos extratos (EETSA e EETSW). Parte destes extratos foi particionada com hexano, diclorometano e acetato de etila, resultando nas respectivas frações para *S. aggregata* (H-SA, D-SA e AC-SA) e *S. warmingii* (H-SW, D-SW e AC-SW). Estas frações, juntamente com os extratos, e as substâncias halleridona (1), cleroidicina-C (2), calceolariosideo B (3), aggregatinas A (4), C (5), D (6) e F (7), 7-hidroxi-tectoquinona (8), tectoquinona (9), 7-metoxi-tectoquinona (10) e lapachenol (11), foram submetidas à análise por CLAE-DAD. As substâncias utilizadas como padrões tinham sido isoladas anteriormente e identificadas por RMN. Os cromatogramas analíticos obtidos foram registrados em um cromatógrafo a líquido HPLC Waters composto por bomba quaternária, injetor automático e detector PDA 2998. As análises foram conduzidas utilizando uma coluna analítica Macherey-Nagel C18, 5µm, 250x4,6mm. Os solventes foram água e MeOH, no modo gradiente, iniciando com MeOH 10% até 100% em 60 minutos, mantendo-se MeOH 100% por 10 minutos. O fluxo foi de 0.8 mL.min⁻¹. A análise dos cromatogramas e espectros no UV obtidos para os extratos, frações e substâncias puras, levou à identificação das substâncias presentes em cada fração. Nos extratos EETSW e EETSA foram identificadas as substâncias 1, 2, 8 e 9. Além destas, EETSA também apresentou as substâncias 3, 4, 5, 6 e 10. As duas frações em hexano (H-SA e H-SW) contém as substâncias 5, 6, 9 e 10, mas apenas em H-SW foi identificada a presença de 11, enquanto que H-SA possui também 4 e 8. Para as frações D-SA e D-SW foram identificadas as substâncias 1, 4, 5, 6, 8, 9 e 10, sendo que, D-SW apresentou ainda 7 e 11. Nas frações AC-SA e AC-SW foi possível identificar as substâncias 1, 2, 5, 6, 8 e 9, mas AC-SA ainda apresentou 3, 4 e 10. Com isto, pode-se concluir que as espécies apresentam várias substâncias em comum, o que está de acordo com sua classificação filogenética, pois ambas pertencem ao clado *Clorothytholoma* da tribo *Sinningieae*, segundo estudos de sequenciamento de DNA. Mas podem ser distinguidas quimicamente pela presença do glicosídeo calceolariosideo B em *S. aggregata*, e do cromeno lapachenol em *S. warmingii*.

Agradecimentos: Ao Prof. Dr. Armando C. Cervi pela coleta e identificação das plantas. Ao CNPq pelo apoio financeiro.



CAPILLARY ELECTROPHORESIS ANALYSIS OF ASPIDOSPERMA ALKALOIDS

Ana C. F. Amaral¹; Arith R. Santos¹; Vinicius V. C. Nery²;
Maria Mpalantinos²; Aline Ramos²; José L. Ferreira², Jefferson R. A. Silva³

¹Laboratório de Plantas Medicinais e Derivados, DQPN, Farmanguinhos, Fiocruz RJ

²PMA, Farmanguinhos RJ

³Lab. de Cromatografia, Depto de Química, UFAM

acamaral@fiocruz.br

Species of the genus *Aspidosperma* Mart. & Zucc. (Apocynaceae; Plumeriae tribe), endemic in Americas, are rich in indole alkaloids and have wide popular use for the treatment of various diseases, including malaria. In Brazil, *Aspidosperma* species are popularly known as “carapanaúba” and have been used to treat liver diseases. Capillary electrophoresis (CE) is advantageous for the analysis of extracts because it allows the direct injection of extracts without purification of the constituents, the use of reduced volumes of sample and a low reagent consumption. In this context, the aim of this work was to study a dichloromethane extract rich in alkaloids of *Aspidosperma rigidum* by capillary electrophoresis analysis. Finally bark samples, collected in Acre (Brazil), were submitted to maceration in ethanol/ water 9:1. The crude extract was partitioned with hexane and dichloromethane. The alkaloids were separated using a capillary of 50 μm x 40 cm effective length, a buffer composed of 50 mM ammonium acetate and 0.8 M acetic acid in a methanol- acetonitrile solution (75:25). This method favored the ionization and separation of alkaloids. The electrophoregrams fingerprint were obtained with and without the addition of acetic acid to the samples. The alkaloid iso-reserpillin previously isolated was used as standard and its electrophoregram exhibited the retention time of 7.4 min. The influence on the electrophoretic separation after acetic acid addition to the sample led to a better separation and resolution of the peaks. The results showed that CE was a good alternative for analysis alkaloids in extracts of plants and is a promising tool to analysis *Aspidosperma* alkaloids in formulations.

Acknowledgements: PRONEX-CNPq, FAPEAM.

ISOLAMENTO DA CHOISYINA POR CCC DE EXTRATOS DE FOLHAS E GALHOS DE TRÊS ESPÉCIES DO GÊNERO CHOISYA

João Paulo Barreto Pereira; Denise Roperero; Ikarastika Rayahu Wanab;
Fabio Boylan; Gilda Guimarães Leitão

*Universidade Federal do Rio de Janeiro - IPPN
SP and PS & TBS Institute, Trinity College Dublin, Dublin 2, Ireland
jobbp@hotmail.com*

Choisya é um gênero pequeno de plantas aromáticas que pertence à família Rutaceae. Membros desse gênero são comumente conhecidos como laranjas mexicanas ou laranjas falsas, devido a similaridade das flores e do cheiro com a flor da laranjeira. Essas plantas são amplamente utilizadas como ornamentais. Algumas espécies desse gênero são híbridos de espécies individuais. Os cultivares mais importantes são Choisya ternata, Choisya Aztec Pearl (*C. arizonica* X *C. ternata*) e a variedade das folhas douradas - *C. ternata* "Sundance". De maneira geral essas plantas produzem alcaloides quinolínicos que possuem atividades farmacológicas interessantes. Extratos etanólicos de folhas (EEF) e extratos etnólicos de galhos (EEG) foram preparados para esses três cultivares. Os seis extratos etanólicos foram fracionados por cromatografia contracorrente (CCC) utilizando-se o mesmo sistema de solventes hexano-acetato de etila-metanol-água (4:6:5:5, v/v), tendo a fase orgânica como fase móvel, 2 ml/min., a 850 rpm. Utilizou-se o aparelho Quattro HT-Prep (AECS, Bridgend, UK) equipado com duas bobinas contendo duas colunas de politetrafluoretileno cada (26mL, 1mm diâmetro interno, + 224mL, 3.2mm diâmetro interno e 95mL, 2mm diâmetro interno + 98mL, 2mm diâmetro interno). Os alcaloides anidroeoxina e choisyina foram isolados em uma única etapa de fracionamento do extrato etanólico de folhas de *C. ternata*. Já no fracionamento do extrato etanólico dos galhos dessa espécie, foi obtida uma mistura contendo um alcaloide ainda não identificado e coumarina, na proporção 1:1. Ainda, a choisyina pode ser isolada em estado puro em uma etapa apenas do extrato etanólico de galhos da variedade Sundance. Para a variedade Aztec-Pearl, o mesmo sistema também permite o isolamento direto de choisyina em um único fracionamento das folhas e dos galhos. Pode-se concluir que a utilização da cromatografia contracorrente se mostrou bastante eficaz como ferramenta para investigação desses alcaloides e que o isolamento de choisyina pode ser obtido em uma única etapa utilizando-se o extrato etanólico de algumas espécies.

Agradecimentos: Ao Ciências sem Fronteiras.



CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DE ANETHUM GRAVEOLENS POR GC/MS EM EXTRATOS ETANÓLICOS

Victoria de M. Gonçalves; Caroline T. Rockembach;
Marco A. Z. Santos; Rogério Antonio Freitag; Claudio M. P. de Pereira

Universidade Federal de Pelotas, RS, Brasil
Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Bioprospecção
Laboratório de Pesquisa em Produtos Naturais
victoriahgoucalves@hotmail.com

Os métodos extrativos convencionais utilizam várias horas e grandes quantidades de solventes nas análises. Com isso, ocorre a busca por métodos alternativos como microondas, ultrassom, fluido supercrítico entre outros. O ultrassom tem sua eficiência na criação e implosão de microbolhas de gás no centro de um líquido, essas colisões fazem com que as células vegetais sejam rompidas, facilitando a difusão do solvente extrator. Os métodos por microondas são eficientes devido seu mecanismo de aquecimento, onde a interação do campo elétrico das moléculas do solvente e as ondas eletromagnéticas do microondas irão provocar uma condução iônica e uma rotação dipolar das moléculas gerando aquecimento. Este trabalho teve por objetivo comparar via GC/MS os metabólicos secundários dos extratos etanólicos de *Anethum graveolens* assistidos por microondas e ultrassom em relação ao método convencional. As análises foram feitas pelo método convencional por um período de 24 horas, ultrassom e microondas em tempos de 5 e 30 minutos. Para a extração se utilizou 5 g da amostra em 50 mL de etanol a 65 °C, com potência de 300 W em microondas e 30 % de amplitude em ultrassom. Para o método convencional observou-se a partir da análise cromatográfica os compostos cis-dihidrocarvona (2,8 %), trans-dihidrocarvona (15,8 %), carvona (26,5 %) e apiol (54,3 %). O método que se obteve concentrações mássica semelhante foi em ultrassom por 30 minutos, onde foram encontrados os compostos cis-dihidrocarvona (2,5 %), trans-dihidrocarvona (16 %), carvona (25,9 %) e apiol (55,7 %). Nas condições estudadas o microondas não se mostrou eficiente como um método extrativo para *Anethum graveolens*. Os resultados mostraram que o ultrassom é um método eficiente no rompimento das células de *Anethum graveolens* facilitando as extrações de metabólitos secundários. Ao mesmo tempo que mostrou uma economia no tempo de extração em média de 23 horas comparado ao método convencional.

Agradecimentos: SINC, UFPel, PPGBBio, Capes.

ANALYSIS OF PHOSPHOLIPIDS IN NATURAL SAMPLES BY NP-HPLC AND CORONA CHARGED AEROSOL DETECTION

Marc Plante¹, Bruce Bailey¹, Ian N. Acworth¹, Marc Yves Chalom², Rodrigo de Sousa Leite²

*Thermo Fisher Scientific, ¹Chelmsford, MA, U.S.A., ²São Paulo, SP, BR
marc.chalom@thermofisher.com*

Charged Aerosol Detector, a sensitive mass-based detector, is ideally suited for the direct measurement of phospholipids, as they are non-volatile and non-chromophoric compounds. It offers excellent sensitivity (down to low nanogram amounts on column), a dynamic range of over 4 orders of magnitude, and similar inter-analyte response independent of chemical structure. A normal-phase HPLC method was developed for quantitation of phospholipids in natural products, including foods and ingredients, using an HPLC system with a charged aerosol detector. This developed method is based on an original publication by Rombaut, R., et al., (J. Dairy Sci., 2005, 88, 482), that enables the direct measurement of a number of glycerophospholipids and sphingolipids species, each as near-single peaks. The detector uses nebulization to create aerosol droplets. The mobile phase evaporates in the drying tube, leaving analyte particles, which become charged in the mixing chamber. The charge is then measured by a highly sensitive electrometer, providing reproducible, nanogramlevel sensitivity. This technology has greater sensitivity, dynamic range and precision than Evaporative Light Scattering and Refractive Index Detectors, is gradient compatible and is simpler to operate than a Mass Spectrometer (MS). Compounds do not have to possess a chromophore (unlike UV detection) or be ionized (as with MS). This sensitivity, combined with the linearity that is possible with use of the Corona Power Function, provides a unique and complete analytical solution for sensitive, reproducible, and routine analysis of non-chromophoric analytes. Five phospholipids were used to calibrate the method for sample analysis: phosphatidylcholine, phosphatidylethanolamine, lysophosphatidylcholine, phosphatidylserine, and phosphatidylinositol. Each analyte solution was injected threefold, plotted, and fit to a linear regression. Egg yolk, lecithin, and krill oil samples were analysed directly, as prepared. Sensitivities for the phospholipids were < 25 ng o.c. LOD. Linear calibration curves were found for all five phospholipid analytes, with correlation coefficients > 0.995 over four orders of magnitude. Phospholipids compositional results matched orthogonal results very well, and quantity amounts were similar, whereby differences were more likely due to sample preparation rather than chromatographic method conditions.

AValiação de diferentes métodos de extração de compostos fenólicos em grãos de cevada

Bruno Molero da Silva*, Carla Beatriz Grespan Bottoli

*Instituto de Química - Universidade Estadual de Campinas - Campinas, São Paulo
e-mail - bruno.anchieta1@gmail.com*

Vários métodos de preparação de amostra tem sido desenvolvidos para determinar compostos fenólicos em uma grande variedade de tipos de amostras, desde a simples filtração até procedimentos mais elaborados que incluem hidrólise e extração/limpeza antes das análises. Por causa da grande diversidade de compostos fenólicos com respeito à polaridade, acidez, número de grupos hidroxilas e anéis aromáticos, níveis de concentração e complexidade da matriz, não há coerência na escolha dos procedimentos de tratamentos das amostras em que se deseja identificar e quantificar compostos fenólicos. Comumente, a extração tem sido a principal etapa para a recuperação e isolamento de fitoquímicos bioativos de materiais vegetais, antes das análises. Neste trabalho, diferentes métodos de extração foram avaliados para extrair compostos fenólicos em grãos de cevada brasileira. Para isto, os grãos de cevada foram submetidos aos diferentes procedimentos e os extratos analisados pela infusão direta no espectrômetro de massas Micromass Quattro Waters Micro API, Waters Corporation em uma vazão de $50 \mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$. No extrato A, 3 g de cevada foram adicionadas a 15 mL de hexano sob agitação por 60 min para remoção de gordura e posterior extração com 45 mL de solução hidroetanólica (50 % v/v - extrato A1 ou 80 % v/v - extrato A2). Em seguida, os extratos foram submetidos à agitação magnética a 80 °C por 90 min, seguido de filtração, evaporação até a secagem e ressuspensão em solução com 2 mL de solução hidroetanólica. No extrato B, uma nova extração foi realizada nas mesmas condições com solução hidroetanólica (80% v/v) e deixada sob agitação magnética por 90 min à 80 °C em manta aquecedora conectados por um septo entre um balão de fundo redondo e uma bexiga sob atmosfera inerte (gás nitrogênio). Já no extrato C, outra extração em sistema de refluxo usando o solvente continuamente em solução hidroetanólica (80% v/v) por 90 min à 80 °C também foi realizada. A caracterização foi realizada por electrospray no modo negativo (ESI(-)-MS) e a otimização do cone (0 a 50 V) e da fragmentação foram realizadas nas mesmas condições para padrões e amostras, utilizando tune automático e a análise de fragmentação pela média de colisão (0 a 50 eV). No extrato A1 foi identificado o ácido ferúlico e no método de extração A2 foram identificados o ácido p-cumárico, ácido protocatecóico e ácido ferúlico em sua composição, na confirmação por ESI-MS/MS. No método de extração B foram identificados a catequina e o ácido protocatecóico. Já no extrato C pôde ser confirmada somente a presença do ácido p-cumárico. Portanto, este estudo permitiu avaliar quais os métodos de extração devem ser otimizados e explorados para posterior quantificação dos compostos fenólicos em grãos de cevada.

Agradecimentos: CNPq, FAPESP, INCT-Bioanalítica.

QUANTIFICAÇÃO DE CAFEÍNA EM CAFÉ POR PADRONIZAÇÃO INTERNA

Mendonça, J. F.*; Provenzano, G. T.; Da Silva Jr., A. I.

IFRJ - Rua Senador Furtado, 121 – Lab. Instrumental - Maracanã – Rio de Janeiro – RJ

*jonas1000fm@hotmail.com

O café é largamente usado em todo mundo, e é muito conhecido pelo seu efeito estimulante. Uma das grandes responsáveis por esse efeito é a cafeína, substância normalmente encontrada em chás, cafés, produtos de cacau e bebidas à base de cola. Esta metilxantina é um estimulante natural do sistema nervoso central e dos músculos cardíacos, tendo como efeito a diminuição da fadiga e o aumento da capacidade de alerta. Estudos recentes mostraram que a cafeína pode ter relação com a prevenção de doenças neurodegenerativas como Parkinson e Alzheimer. As metilxantinas como a cafeína e a teobromina são consumidas em todo mundo, e os efeitos trazidos por elas podem ser tanto positivos quanto negativos, dependendo da quantidade consumida. A quantificação exata em alimentos e bebidas destas substâncias tem importância na saúde da população. O presente trabalho propõe a utilização da padronização interna, utilizando teobromina ou teofilina como padrões internos, na quantificação de cafeína. Foram usados Cromatógrafo Líquido Dionex; Coluna C18 Dionex (5,0 μm , 120 \AA); Detectores Dionex de Arranjo de Diodos e de Fluorescência. Utilizou-se como gradiente de fase móvel para as amostras: 0 – 7 min 90% H_2O /10% MetOH, 7 – 16 min gradiente até 100% MetOH, 16 – 22 min 100% MetOH, 22 – 24 min 90% H_2O /10% MetOH. Os padrões da curva analítica usados foram: 1, 2, 5, 10, 20 e 50 ppm. No DAD monitorou-se λ 273 nm e na fluorescência λ_{exc} 273 nm e λ_{em} 320 nm. Foram estimados os limite de detecção e de quantificação para este método. Observou-se que nesta programação não há nenhum interferente nos tempos de retenção da teofilina ou da teobromina nas amostras de café examinadas neste trabalho, fazendo com que elas se tornem bons padrões internos. Foi feito um comparativo com a quantificação de cafeína pelo método de padronização externa, para mensurar perdas de analito no preparo de amostra e demonstrar a confiabilidade maior no método de padronização interna.

Agradecimentos: IFRJ; aos Professores de Análise Instrumental; ao técnico Victor Guagliardi e aos alunos bolsistas do laboratório.



CARACTERIZAÇÃO DE UM NOVO METABÓLITO DA PIPLARTINA POR CG-MS APÓS METABOLISMO MICROSSOMAL IN VITRO

Fernanda L. Moreira¹, Ricardo Vessecchi², Lucas M. M. Marques¹,
Norberto Peporine Lopes¹, Anderson R. M. de Oliveira²

¹Faculdade de Ciências Farmacêuticas, USP, Ribeirão Preto, Brasil

²Departamento de Química, FFCLRP, USP, Ribeirão Preto, Brasil

fer_unifal@yahoo.com.br

A piplartina é um alcaloide encontrado em pimentas com significativa atividade citotóxica sobre células de várias linhagens tumorais, além de outras atividades biológicas importantes. No entanto, não existem estudos sobre o metabolismo desta substância. Os estudos de metabolismo in vitro constituem uma das etapas pré-clínicas no desenvolvimento de um novo fármaco e promovem o conhecimento de dados importantes como a cinética enzimática, interação medicamentosa e a identificação de metabólitos. Diante do potencial desta substância em tornar-se um novo medicamento, é importante conhecer os metabólitos produzidos, que estão relacionados com a sua farmacocinética, segurança e eficácia. Com isso, o objetivo deste trabalho foi identificar e elucidar um metabólito a partir da reação da piplartina com microsomas hepático humanos. A reação foi realizada adicionando piplartina na concentração final de 283,6 μM , tampão fosfato 0,1 M pH 7,4, NADPH (cofator) e, finalmente, proteínas microsomais na concentração final de 2 mg/mL. A mistura foi incubada por 50 min a 37°C, empregando um banho-maria com agitação e a reação foi interrompida com metanol gelado. A análise foi realizada por CG-EM com uma coluna DB-1MS (30 m x 0,25 mm, 0,25 μm), injeção no modo splitless com temperatura de 250°. A análise foi realizada aplicando uma rampa de temperatura; a temperatura inicial foi de 100°C, sendo mantida durante 5 minutos e aumentada a 5°C/min até atingir 290°C. A temperatura da fonte de íons e da interface foi de 250 e 280°C, respectivamente. A reação de derivatização foi necessária para melhor visualização dos produtos. No cromatograma foi identificada uma substância (tR 41,37 min) correspondente a um produto do metabolismo resultante de uma o-desmetilação na porção 3,4,5-trimetoxicinâmica da estrutura da piplartina. Os seguintes íons foram observados no espectro de massa referente ao metabolismo in vitro da piplartina: m/z 303; m/z 207; m/z 221; m/z 124; m/z 96 e m/z 69. O íon molecular visualizado foi m/z 303. O íon m/z 207 confirma o local de alteração na molécula, diferindo do íon diagnóstico m/z 221 obtido para a piplartina. Além disso, o fragmento m/z 124 e suas perdas consequentes de CO (m/z 96 e 69) no anel lactâmico, comprovam a alteração no lado oposto da molécula. Através dos resultados foi possível verificar e elucidar a estrutura de um novo e inédito metabólito da piplartina a partir da reação com as enzimas da CYP450 presentes no fígado humano, indicando a presença do metabolismo de fase I, importante no processo de eliminação do fármaco.

Agradecimentos: FAPESP, CAPES e CNPq.

ESTUDO METABOLÔMICO DE ESPÉCIES DO GÊNERO CASEARIA (SALICACEAE) UTILIZANDO MÉTODOS CROMATOGRÁFICOS

Naira Buzzo Anhesine, Paula Carolina Pires Bueno, Alberto José Cavalheiro

Rua Prof. Francisco Degni, nº 55, CEP 14800-900, Araraquara - SP
nbanhesine@hotmail.com

O gênero *Casearia* (Salicaceae) é muito conhecido por causa do uso medicinal de suas espécies. Entre elas, a *C. sylvestris* se destaca devido às suas várias atividades biológicas tais como antiproliferativa e citotóxica em células tumorais. Além disso, esta espécie é popularmente usada contra veneno de cobra, em tratamento de úlceras gástricas e como agente anti-inflamatório. Da mesma forma, existem outras espécies do mesmo gênero que possuem várias atividades biológicas já relatadas, como a *C. grandiflora*, *C. decandra*, *C. arborea*, *C. lasiophylla*, *C. javitensis* e *C. ulmifolia*. No entanto, considerando o ponto de vista químico, elas foram muito pouco estudadas. Os poucos dados disponíveis sobre o gênero *Casearia* relata a ocorrência dos mais diversos metabólitos secundários das mais diversas classes como flavonóides, taninos, lignanas, esteróides, cumarinas, amidas, compostos fenólicos, terpenóides e, especialmente, os diterpenos clerodânicos. Portanto, métodos cromatográficos tais como Cromatografia em Camada Delgada (CCD) e Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), tanto quanto métodos espectroscópicos, como Espectroscopia no Ultravioleta (UV) são amplamente usados na determinação de compostos pertencentes à estas classes. Neste contexto, o objetivo deste trabalho, além de contribuir para o estudo do gênero *Casearia*, é estudar essas seis espécies através da análise e documentação de suas composições químicas, bem como identificar novos metabólitos secundários, buscando a bioprospecção de substâncias com potencial medicinal e econômico. Para isso, as folhas das seis espécies foram coletadas, secas, trituradas e extraídas com água, etanol e hexano em sequência, cobrindo uma ampla gama de polaridade. A documentação química começou com os extratos etanólicos e hexânicos que foram submetidos à CCD em fase normal e várias combinações de fases móveis compostas por isopropanol, etanol, hexano, acetato de etila e éter etílico foram avaliadas para se obter as melhores condições de eluição. Posteriormente, os extratos aquosos e etanólicos foram analisados por UPLC-DAD, utilizando uma coluna cromatográfica C18-Kinetex sob um gradiente constituído por água e acetonitrila. Finalmente, os extratos hexânicos foram analisados por CG-MS. Esta estratégia permitiu a detecção de um número considerável de compostos cobrindo várias classes de substâncias polares e apolares. Concluindo, este estudo reflete a riqueza do ponto de vista químico deste gênero e dá um passo à frente para a promoção de seu estudo sistemático.

Agradecimentos: FAPESP (bolsa de Iniciação Científica #2014/02738-0), CAPES e CNPq.



DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO CROMATOGRÁFICO PARA QUANTIFICAÇÃO DE DEZ COMPOSTOS FENÓLICOS POR HPLC-DAD

Gayer, M. C.; Rodrigues, D. T.; Denardin, E. L. G.; Roehrs, R.

*Curso de Licenciatura em Ciências da Natureza Universidade Federal do Pampa, UNIPAMPA,
Campus Uruguiana, Uruguiana, RS, Brasil
mateus_cristofari@hotmail.com*

Devido aos seus vários benefícios à saúde humana, como principais agentes antioxidantes, e sua grande variedade de compostos de difícil análise, os compostos fenólicos vem sendo alvo de vários estudos, com relação à sua presença, ou não, e sua concentração, em extratos de plantas. Como na literatura não foram encontrados métodos para análise, por HPLC-DAD, para dez compostos fenólicos simultaneamente, teve-se como objetivo o desenvolvimento de um método analítico que pudesse detectar e quantificar os ácidos cafeico, ferúlico, clorogênico, vanílico, siríngico, gálico, cumárico e benzoico, além da quercetina e rutina em extratos de plantas, que são consumidos pela população na forma de chá. Para o desenvolvimento do método analítico por HPLC-DAD, foram utilizados metanol, acetonitrila, água ultrapura, água com pH 3 ajustado com ácido fosfórico e tampão fosfato. Sendo que os melhores resultados foram obtidos com a utilização de acetonitrila e água pH 3 como fase móvel. Foi utilizado um sistema de HPLC YL9100 com degaseificador (YL9101), bomba quaternária (YL9110), forno para coluna (YL9131), amostrador automático (YL9150) e detector DAD (YL9160), com uma coluna Synergi Fusion-RP 80A (dimensões, 250 mm x 4,6 mm x 4 µ). As condições cromatográficas do método são constituídas de uma fase móvel inicial de água pH 3/acetonitrila (95:5, V/V) em modo gradiente até 35 minutos com a fase móvel 100% acetonitrila, voltando a água pH 3/acetonitrila (95:5, V/V) aos 38 minutos e seguindo em modo isocrático até 50 minutos. O volume de injeção foi de 20 µL com vazão de 0,8 mL/min. Os comprimentos de onda utilizados para a detecção dos ácidos gálico, benzoico, siríngico e vanílico e a rutina foi de 220 nm. Já para os ácidos cafeico, cumárico e ferúlico o comprimento de onda utilizado foi o de 320 nm, e para a quercetina foi de 368 nm. A faixa linear para os picos dos ácidos cumárico e ferúlico foi de 0,05 à 10mg/L, sendo que os demais (ácidos cafeico, gálico e benzoico, além da quercetina e rutina) foram de 0,5 à 10mg/L. Os valores do r^2 dos sete picos ficaram entre 0,9926 e 0,9998. O método se mostrou eficiente para a quantificação de sete compostos (ácidos cafeico, ferúlico, gálico, cumárico e benzoico, além da quercetina e rutina), para os outros três (ácidos clorogênico, vanílico, siríngico) a quantificação pode ser feita, mas não é possível determinar a porcentagem de cada uma dos compostos na área total do pico devido à coeluição.

Agradecimentos: FAPERGS e UNIPAMPA.

IDENTIFICAÇÃO DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS DE EXTRATOS E FRAÇÕES DE *P. CITRINUM*

Caline Gomes Ferraz¹, Caroline Damasceno¹, Ana Cristina Fermino Soares¹,
Frederico Guaré Cruz², Elisangela Fabiana Boffo²

Centro de Ciências Exatas e Tecnológicas - Universidade Federal do Recôncavo da Bahia-UFRB

¹*Cruz das Almas-Bahia;* ²*Unversidade Federal da Bahia*

calineferraz@ufrb.edu.br

O gênero *Penicillium*, pertencente ao filo Ascomycota, subfilo Pezizomycotina, classe Eurotiomycetes e a ordem Eurotiales, possui cerca de 200 espécies descritas. Os fungos deste gênero são conhecidos por produzirem diversas espécies de metabólitos secundários, como alcaloides, benzodiazepinas, quinolinas, quinazolinas, e policetídeos. Assim, diversas espécies deste gênero tem sido exploradas em termos de bioprospecção e isolamento de numerosa quantidade de novos metabólitos bioativos, incluindo substâncias antibacterianas, antifúngicas, imunossupressores, indicando assim a importância do gênero como fonte de moléculas bioativas. O trabalho tem como objetivo estudar a composição química, em termos de metabólitos secundários do fungo *P. citrinum*, comparar a composição química dos extratos deste fungo através dos métodos espectroscópicos. Após quatorze dias de cultivo, o micélio e a fração líquida do cultivo de *P. citrinum* foram separados por filtração à vácuo. Os extratos brutos do micélio foram obtidos após três extrações em clorofórmio, acetato de etila e metanol, respectivamente. Os extratos foram concentrados em evaporador rotativo. Foram feitas análises de RMN de ¹H com os extratos. A partir do fracionamento do extrato de clorofórmio (m= 3,30 g) do micélio em coluna de gel de sílica, foram obtidas até as substâncias ergosterol (1); 9,12 hexadecadienoato de n-propil (2); 9,12 octadecadienoato de metila (3) e 10,13-dimetil-tetradecanoato de metila (4), após reação de metilação com diazometano. As substâncias foram identificadas por análise RMN de ¹H e de ¹³C em equipamento Varian Inova 500 e do infravermelho foram registrados com espectrofotômetro Shimadzu. As análises por GC-MS foram realizadas em cromatógrafo Perkin Elmer, modelo Clarus 680 acoplado a um detector de massas modelo Clarus SQ 8T com ionização por impacto de elétrons a 70 eV. Empregou-se o modo full scan de escaneamento, pois não se conhecia o perfil de intensidade das massas e utilizou-se um analisador de massas do tipo quadrupolo armadilha de íons. A caracterização dos perfis das amostras ocorreu por comparação do espectro de massa obtido com os padrões existentes na biblioteca do software (Mass Spectral Database NIST/EPA/NIH). O extrato de acetato de etila também foi metilado com diazometano. Até o momento foi identificada a substância ergosterol (1) por análise RMN de ¹H e de ¹³C e a partir da análise por GC-MS foram identificados os compostos 9,12 octadecadienoato de metila (3) e 10,13-dimetil-tetradecanoato de metila (4) do extrato metilado. Como só uma parte dos extratos foi estudada até o presente momento, sugere-se a sua continuidade para finalizar o estudo da composição química dos extratos como também os estudos de atividades para os extratos e metabólitos isolados.

Agradecimento: CAPES, CNPq, FAPESB.



QUANTIFICAÇÃO DE LICOPENO POR CLAE EM SARDINHAS ENLATADAS COM MOLHO DE TOMATE

Amanda M. D. Martins¹, Fabiano Oliveira¹,
Sidney Pacheco², Ronoel Luiz de Oliveira Godoy²

¹Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

²Emprapa Agroindústria de Alimentos

amandaruralmartins@gmail.com

Sardinhas enlatadas são comumente consumidas pela população brasileira por ser um produto de baixo custo, rápido consumo e fácil estocagem. Durante seu processamento, são comumente empregados líquidos de cobertura, como molho de tomate, com o intuito de melhorar a troca térmica durante a esterilização e as características sensoriais do produto. Do ponto de vista nutricional, o consumo de molho de tomate é indicado devido a presença do licopeno, um carotenoide com grande potencial antioxidante. Sua ingestão possui relação inversa entre a incidência de doenças cardiovasculares e câncer. Diversos estudos foram realizados no intuito de avaliar o efeito do processamento térmico sobre o teor deste carotenoide, contudo, os resultados ainda são inconsistentes. Algumas pesquisas indicam que a exposição do licopeno à altas temperaturas torna-o suscetível a degradação e ou isomerização. Outros, no entanto, sugerem que o processamento permite melhor biodisponibilidade. O objetivo deste trabalho foi avaliar através da Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) o efeito da esterilização sobre o teor de licopeno presente em sardinhas enlatadas adicionadas de molho de tomate. As sardinhas e o molho de tomate foram cedidos pela Indústria de Conservas de Peixes Coqueiro situada no município de São Gonçalo, Rio de Janeiro. Para extração utilizou-se 1-3g de amostra. A extração foi realizada com acetona e posterior partição para éter de petróleo. Para o cálculo de carotenoides totais mediu-se a absorvância em espectrofotômetro (UV-1800 – Shimadzu®) em comprimento de onda 470nm. A separação e quantificação do licopeno foi realizada utilizando cromatógrafo líquido de alta eficiência Waters® composto por bomba modelo W600, detector de arranjo de fotodiodos Waters® 996, coluna YCM® C30 Carotenoid (250x4,6xmm;3µm), fluxo 0,8 mL/minuto, volume de injeção de 15µL e tempo de corrida de 28 minutos. A eluição foi feita em modo gradiente de metanol (A) e éter metil-terc-butílico (B) com a seguinte composição: Inicial = 80% A e 20% B; 0,5 min = 75% A e 25% B; 15 minutos = 15% A e 85% B; 15,05 minutos = 10% A e 90% B; 16,50 minutos = 10% A e 90% B; 16,55 minutos = 80% A e 20% B; 28,00 minutos = 80% A e 20% B. A identificação e quantificação do licopeno, foi realizado através de comparação com tempo de retenção e espectro de UV/VIS com padrão previamente isolado pelo laboratório. Embora a esterilização da sardinha adicionada de molho de tomate tenha sido realizada mediante a exposição a elevada temperatura (126°C) e tempo considerável (40 minutos) o teor de retenção do licopeno após o processamento foi de 94%. A isomerização trans/cis foi de 5%. Desta forma, o consumo de sardinhas enlatadas com molho de tomate demonstrou ser uma alternativa viável para fonte deste carotenóide e pode vir a contribuir para enriquecimento nutricional população brasileira.

Agradecimentos: CAPES, UFRRJ, EMBRAPA, GRUPO CAMIL.

IDENTIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE CAROTENOIDES POR CLAE-DAD EM POLPA DE CAMBOIM

Luciana M. de Oliveira¹, Alexandre Porte¹, Ronoel Luiz de O. Godoy²,
Marcelo da C. Souza³, Ana Cristina M. S. Gouvêa³

¹Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro

²Embrapa Agroindústria de Alimentos

³Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

lucianamouta@gmail.com

Devido as suas propriedades benéficas a saúde, como atividade antioxidante e pró-vitáminica A, os carotenoides são amplamente estudados e tem seu consumo cada vez mais estimulado. A utilização da cromatografia líquida com detector de arranjo de fotodiodo é atualmente a técnica mais empregada para análise qualitativa e quantitativa de carotenoides. A *Myrciaria floribunda* (H.West ex Willd) O.Berg, conhecida popularmente como camboim, é uma espécie frutífera da família Myrtaceae, com distribuição por todo o Brasil, ocorrendo em diversos tipos de vegetação. O camboim é abundante nas áreas de restinga do estado do Rio de Janeiro, possui frutos globosos de coloração amarela, associada à presença de carotenoides. Este trabalho teve por objetivo a identificação e quantificação dos carotenoides encontrados na polpa de camboim. Para a determinação dos carotenoides, frutos maduros foram coletados e os carotenoides extraídos da polpa utilizando acetona. O extrato cetônico foi particionado com éter de petróleo, em seguida o extrato etéreo foi saponificado com solução metanólica de KOH 10% (m/v) por 16 horas ao abrigo da luz e oxigênio. Os carotenoides totais foram determinados por espectrofotometria a 450nm. A identificação e quantificação dos carotenoides foi realizada em cromatógrafo líquido de alta eficiência Waters® composto por bomba modelo W600 acoplado ao detector de arranjo de fotodiodos Waters® 996, coluna YCM® C30 Carotenoid (250x4,6xmm;3µm), fluxo de 0,8 mL/minuto, volume de injeção de 15µL e tempo de corrida de 28 minutos. A eluição foi feita em modo gradiente utilizando fase móvel A de metanol e fase móvel B de metil terc-butil éter. O gradiente utilizado foi inicialmente 80% de A e 20% de B, em 0,5 min 75% de A e 25% de B, 15 min 15% de A e 85% de B, 15,05 min 10% de A e 90% de B, 16,50 min 10% de A e 90% de B, 16,55 min 80% de A e 20% de B, e 28 min 80% de A e 20% de B. O teor de carotenoides totais encontrado foi de 7465µg/100g de polpa fresca. Na análise por CLAE-DAD foram encontrados 41µg/100g de Luteína, 103µg/100g de Zeaxantina, 4796µg/100g de β-criptoxantina, 29µg/100g de 13-cis-β-caroteno, 811µg/100g de β-caroteno e 43µg/100g de 9-cis-β-caroteno. Entre os carotenoides identificados o β-caroteno e a β-criptoxantina apresentaram maior concentração, sendo estes amplamente reconhecidos por sua atividade pró-vitáminica A. Os carotenoides pró-vitáminicos A representam um total de 270µg RE (retinol equivalente)/100g do fruto, um fornecimento de 30% da dose diária recomendada para um homem adulto. Os resultados deste estudo revelaram o camboim como uma fonte alternativa de carotenoides, sendo possível agregar valor a este fruto até então pouco difundido.

Agradecimentos: PPGAN-UNIRIO e CAPES.



IDENTIFICAÇÃO DE METABÓLITOS DE *Penicillium citrinum* E SUA AÇÃO NO CONTROLE DE *Aspergillus niger*

Ana Cristina Fermino Soares¹, Caroline Lopes Damasceno¹,
Caline Gomes Ferraz¹, Frederico Guaré Cruz², Isley Fehlberg³

¹Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Microbiologia Agrícola;

²Universidade Federal da Bahia, Instituto de Química;

³Instituto Federal de Sergipe

e-mail - ferminosoares@gmail.com

Penicillium citrinum tem sido frequentemente isolado de plantas de sisal no semiárido da Bahia. Este fungo não é patogênico ao sisal e apresenta atividade antimicrobiana, sendo um potencial agente de controle da podridão. Este trabalho teve como objetivo o isolamento de metabólitos dos extratos obtidos de *P. citrinum* e identificação por meio de métodos cromatográficos, visando o estudo desses metabólitos para o controle de *Aspergillus niger*, agente causal da podridão vermelha do sisal. *P. citrinum* foi multiplicado em meio de cultura Batata, Dextrose e Ágar, a 28°C. Após sete dias de cultivo, fragmentos de micélio foram transferidos para frascos de Erlenmeyer contendo 150 mL de meio líquido Czapek enriquecido com 0,5% de extrato de levedura. Após quatorze dias de cultivo, o micélio e a fração líquida do cultivo de *P. citrinum* foram separados por filtração à vácuo. Dessas amostras separadas, foram obtidos os extratos brutos por meio de extração com solventes orgânicos de diferentes polaridades. A fração líquida do cultivo de *P. citrinum* foi particionada duas vezes por períodos de 24 horas cada, utilizando primeiramente clorofórmio, seguido de acetato de etila e o N-butanol, sendo em seguida concentrados. Foram feitas análises de RMN de 1H com os extratos, e de posse dos espectros foi escolhido o extrato de clorofórmio como primeiro a ser estudado. O extrato de clorofórmio do filtrado foi fracionado por cromatografia em coluna de gel de sílica e duas frações foram submetidas a cromatografia de camada delgada preparativa, sendo obtidas as substâncias ergosterol (1) e uma lactona (2), respectivamente. A substância (1) foi identificada por análise RMN de 1H em equipamento Varian Inova 500 e comparação com os dados da literatura. A substância (2) foi identificada por análise de RMN de 1H e 13C, gHMBC e HMQC. O espectro na região do infravermelho foi obtido em espectrofotômetro Shimadzu e a análise GC-MS foi realizada em cromatógrafo Perkin Elmer, modelo Clarus 680 acoplado a um detector de massas modelo Clarus SQ 8T com ionização por impacto de elétrons a 70 eV e por comparação com os dados da literatura. Determinou-se a concentração mínima inibitória (CMI) e a CL50 dos extratos para *A. niger*. Os seis extratos do micélio e filtrado de *P. citrinum* inibiram significativamente a germinação de esporos de *A. niger*. A maior porcentagem de inibição foi 61,27 % para o extrato de clorofórmio do filtrado (ECF) e 58,96 % para o extrato de clorofórmio do micélio (ECM). A CL50 para germinação de esporos foi de 15,62 a 1000 µg mL⁻¹ para ECF e 15,62 a 500 µg mL⁻¹ para ECM, variando com o isolado de *A. niger*. Não houve inibição do crescimento micelial de *A. niger* pelos extratos nas concentrações até 2000 µg mL⁻¹. Conclui-se que *P. citrinum* produz metabólitos com ação antifúngica a *A. niger* e estudos complementares devem determinar o princípio ativo de cada extrato e sua ação antimicrobiana.

Agradecimentos: À FAPESB, CAPES e CNPq pelo auxílio financeiro a pesquisa e a concessão de bolsas.

MONITORAMENTO DOS GRÃOS DE CAFÉ VERDE (COFFEA ARABICA L.) BRASILEIRO

Anna Tsukui; Ana Laura Macedo Brand; Claudia Moraes de Rezende

*Universidade Federal do Rio de Janeiro, Avenida Athos da Silveira Ramo 149,
Cidade Universitária, CEP 21941-909, Rio de Janeiro
annatsukui@yahoo.com.br*

O Brasil apresenta diversas regiões de plantio de cafés arábica, com importante participação na economia brasileira. O café é uma das principais fontes de ácidos clorogênicos na dieta humana, representa uma classe de compostos considerados como antioxidantes e que estão presentes tanto no café cru quanto na bebida, além de ser rico em cafeína e teor em óleo. Este trabalho tem como objetivo mapear grãos de cafés arábica crus cultivados no Paraná, em relação ao teor de ácidos clorogênicos, cafeína e teor em óleo (*Coffea arabica* L.), e correlacionar estes teores às influências dos diferentes processos existentes na cafeicultura do estado, com auxílio de ferramentas estatísticas. Foi empregada a extração por banho em ultrassom, com o objetivo de simplificação do procedimento experimental, para análise de ácidos clorogênicos e cafeína, com posterior análise e quantificação por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). A extração partiu de 1 grama de grãos moídos com 4 mL de metanol a 45°C/20 minutos, seguido da filtração em filtro de seringa Millipore (42µm) e posterior diluição do extrato para análise em CLAE nas seguintes condições: pré-coluna e coluna Regis ODS-1, 4,6 x 250mm, 5µm; fase móvel isocrática de ácido acético/H₂O (5:95 v/v) e MeCN em proporção de 95:5 (v/v), detecção UV-Vis em 330nm e 272nm para o ácido clorogênico e cafeína, respectivamente. O teor em óleo (massa óleo/100g grão) foi determinado via extração por Soxhlet (4 h). Foram investigados os parâmetros de validação do método CLAE para ácidos clorogênico e cafeína, como a precisão, exatidão, limite de detecção (LD) e quantificação (LQ), recuperação e linearidade. Como resultado da quantificação de ácido clorogênico foi possível estabelecer um método de quantificação satisfatório em sua linearidade ($r^2 = 0,9956$) e precisão (CV < 3,7 %). O teor representativo de uma das amostras para ácido clorogênico foi de 1,4 a 4,5 g / 100g de grão. Para o teor de cafeína os grãos apresentaram variação entre 0,8 a 0,6 g / 100 g de grão. No teor de óleo, os grãos apresentaram variação 2 a 10 g / 100g de grão. De acordo com o resultado dos teores de ácidos clorogênicos, cafeína e óleo, influências relativas a forma de cultivo e ao processamento pós-colheita foram observados. Este trabalho pretende contribuir para o conhecimento do teor de ácidos clorogênicos, cafeína e lipídios presentes no café submetidos a diferentes processamentos, como forma de monitoramento dos grãos cultivados em solo brasileiro.

Agradecimentos: CAPES, CNPq, FAPERJ.

UTILIZAÇÃO DA CLAE PARA AVALIAÇÃO DA BIOACESSIBILIDADE DE ANTOCIANINAS DA CASCA DE JAMBO

Peixoto, F.M.¹; Santiago, M.C.P.A.²; Gouvêa, A.C.M.S.¹; Pacheco, S.²;
Nascimento, L.S.M.²; Borguini, R.G.²; Godoy, R.L.O.²

¹UFRRJ, Rodovia BR 465, Km 7, Seropédica, Rio de Janeiro

²Embrapa Agroindústria de Alimentos, Avenida das Américas, nº29.501, Guaratiba, Rio de Janeiro

fpeixoto24@gmail.com

O jambo vermelho (*Syzygium malaccensis*, (L.) Merryl & Perry) é um fruto adocicado e de aparência atrativa devido à cor vermelha de sua casca. É um fruto não convencional, por não ser comum como fruto de mesa e por apresentar pouco valor para a indústria de alimentos, no entanto, sua casca apresenta elevado teor de antocianinas, podendo ser utilizada como matéria-prima para a obtenção de produtos em pó rico em antocianinas, para utilização como corante ou como fonte concentrada destes compostos. As antocianinas são o grupo mais importante de pigmentos hidrossolúveis do reino vegetal, sendo responsáveis pela coloração do vermelho-alaranjado ao roxo em frutas, flores e hortaliças. Estudos relatam diversas propriedades terapêuticas e preventivas associadas ao seu consumo, pois apresentam elevada capacidade antioxidante. No entanto, para atingir os efeitos benéficos para a saúde, estes compostos necessitam ser biodisponíveis, ou seja, serem absorvidos a partir do intestino para a circulação e entregues para o tecido alvo. Por esta razão, os modelos de digestão *in vitro* e as técnicas cromatográficas têm sido ferramentas eficazes para o estudo dos compostos potencialmente biodisponíveis, ao apontarem sua bioaccessibilidade. O objetivo deste trabalho foi investigar a bioaccessibilidade de antocianinas da casca do jambo vermelho utilizando um modelo de digestão *in vitro*, seguida da identificação e quantificação por cromatografia líquida. A extração das antocianinas dos frutos antes da digestão e após a digestão foi realizada com solução de metanol acidificado com ácido fórmico. O estudo da bioaccessibilidade *in vitro* de antocianinas foi realizado utilizando a metodologia de digestão *in vitro*. As análises cromatográficas foram realizadas em Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência acoplado ao detector de arranjo de fotodiodos, coluna C18 (100mm x 4,6mm; 2,4 µm), fluxo de 1,0mL/min e modo de eluição gradiente com acetonitrila e solução aquosa de ácido fórmico 5%, volume de injeção de 20µL, temperatura da coluna 40°C. Os cálculos da concentração de cada antocianina foram realizados por equivalência com a curva padrão da cianidina-3-glicosídeo. A concentração total de antocianinas foi de 219,46±6,75 mg/100g antes da digestão *in vitro*, e o perfil cromatográfico extraído à 520nm indicou a presença de duas antocianinas: cianidina-3,5-diglicosídeo e cianidina-3-glicosídeo. Após a digestão o perfil de antocianinas permaneceu constante, embora tenha ocorrido a redução nas concentrações finais, obtendo-se valores de bioaccessibilidade de 6,50%, indicando que as condições fisiológicas, tal como o elevado pH intestinal, poderia ser a maior causa para a degradação das antocianinas. Por fim, outras investigações serão necessárias a fim de elucidar quais fatores determinam a liberação e/ou degradação das antocianinas da matriz.

Agradecimentos: EMBRAPA.

CARACTERIZAÇÃO DE DIFERENTES EXTRATOS DE FOLHAS DE ALCACHOFRA (*Cynara scolymus* L.) OBTIDOS POR EXTRAÇÃO POR ULTRASSOM UTILIZANDO GC/qMS

Allan S. Polidoro (PG), Caroline Saucier (PG), Jenniffer U. do Carmo (IC),
Anáí L. dos Santos (PG), Elina B. Caramão (PQ), Rosângela A. Jacques (PQ)

*Laboratório de Química Analítica Ambiental e Oleoquímica – Instituto de Química
Universidade Federal do Rio Grande do Sul – Brasil
allanpolidoro.rs@gmail.com; rosangela.j@globo.com*

A alcachofra (*Cynara scolymus* L.), planta herbácea perene da família Asteraceae, é originária da região mediterrânea e tem sido utilizada mundialmente para fins alimentícios e medicinais. Esta planta é amplamente cultivada por causa de suas grandes inflorescências imaturas, conhecidas como “cabeças”, com brácteas e receptáculos comestíveis, que representam um importante componente da dieta mediterrânea e constituem uma fonte rica de compostos bioativos, fibras e minerais. Existem vários métodos descritos na literatura científica para determinação dos constituintes químicos de extratos vegetais. Um dos procedimentos considerados mais adequados é a preparação de extratos hidroalcoólicos. De acordo com o Formulário de Fitoterápicos da Farmacopeia Brasileira, os extratos hidroalcoólicos de folhas de alcachofra (*Cynara scolymus* L.) possuem diversas indicações terapêuticas. Este trabalho tem como objetivo analisar diferentes extratos de folhas de alcachofra obtidos por ultrassom por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas com analisador quadrupolar (GC/qMS). Para a realização das extrações sequenciais, foram utilizadas 7,5 g de folhas de alcachofra com 225 mL de hexano e mesmo volume de diclorometano e acetato de etila. A relação massa de amostra:volume de solvente e o tempo de extração utilizados foram 1:30 e 180 minutos. Para a obtenção do extrato hidroalcoólico, folhas de alcachofra foram submetidas à extração assistida por ultrassom com solução de etanol 60%. Após filtração, os extratos foram concentrados em evaporador rotatório e secos em liofilizador. Estes extratos foram diluídos em 6,8 mL de água e submetidos à extração líquido-líquido sequencial com hexano, diclorometano e acetato de etila. Os extratos obtidos na extração sequencial e as frações do extrato hidroalcoólico foram analisados em um cromatógrafo gasoso utilizando uma coluna capilar ZB-5MS (60 m x 0,25 mm x 0,25 µm). As temperaturas do injetor, da interface e da fonte de íons foram mantidas a 300 °C. A temperatura inicial do forno foi de 40 °C com taxa de aquecimento de 2 °C/min até 300 °C, permanecendo nesta temperatura por 20 min. Nos extratos da extração sequencial foram identificados ácido palmítico, grosheimina, β-amirina e lupeol. Os compostos majoritários identificados nos extratos hidroalcoólicos foram ácido palmítico, palmitato de etila, fitol, ácido linoleico, β-amirina e lupeol.

Agradecimentos: CAPES e CNPq.



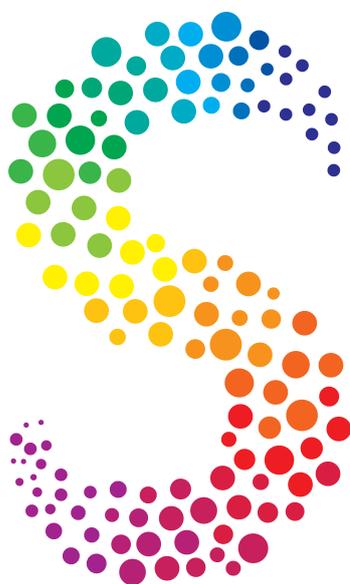
PRINCIPAIS DIFERENÇAS ENTRE FUNCHO E ANIS AVALIADAS ATRAVÉS DA GC×GC E QUIMIOMETRIA

Juliane Welke, Flaviana Damasceno, Karine Nicolli, Lilian Mentz, Elina Caramão,
Fernando Pulgati, Cláudia Zini

*Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Instituto de Química,
Faculdade de Farmácia e Instituto de Matemática, UFRGS, Porto Alegre, RS
cazini@iq.ufrgs.br*

O anis e o funcho apresentam características similares, incluindo o aroma, o que resulta em confusão entre estes dois frutos. As propriedades antioxidantes, antimicrobianas e relacionadas ao tratamento de problemas gastrointestinais, tanto do funcho quanto do anis, são bem conhecidas. Além disso, constituintes isolados destas plantas têm sido estudados em relação as suas propriedades terapêuticas ou tóxicas. A cromatografia gasosa monodimensional (1D-GC) tem sido a técnica utilizada para a caracterização do perfil volátil do funcho e do anis. Entretanto, a cromatografia gasosa bidimensional abrangente (GC×GC), quando comparada a 1D-GC, apresenta capacidade superior para a separação de compostos, maior seletividade e sensibilidade. Desta maneira, com a utilização da GC×GC pode-se obter mais informação sobre os constituintes da amostra. O objetivo deste trabalho é identificar as principais diferenças no perfil volátil de funcho e anis analisados através da microextração em fase sólida no modo headspace e GC×GC acoplada a espectrometria de massas por tempo de voo. Cada amostra apresentou cerca de 950 picos relacionados aos compostos voláteis pertencentes à várias classes químicas, incluindo compostos terpênicos, ésteres, ácidos, aldeídos, cetonas, álcoois, fenóis e outros. Os dados gerados através da GC×GC/TOFMS foram usados para a obtenção das razões de Fisher. Os principais compostos responsáveis pelas diferenças entre funcho e anis foram predominantemente sesquiterpenos (35,5%), seguidos de hidrocarbonetos monoterpênicos (22,6%), monoterpênicos oxigenados (12,9%), álcoois (12,9%) e fenil propanóides (6,4%). Estes 31 compostos indicados pela razão de Fisher foram utilizados na análise dos componentes principais (PCA). Doze compostos apresentaram autovalores maiores que 1 e foram distribuídos nos dois primeiros fatores, que explicam 87,7% da variância total. Os compostos relacionados ao primeiro fator foram 4,5-dehidro-isolongifoleno, 4-terpineol, metil eugenol, α -pineno, calameneno, estragol, allo aromadendreno e cadineno. Outros quatro compostos foram relacionados ao segundo fator incluindo fenchol, linalool, β -ocimene e sabinene. Um exemplo da importância do uso da GC×GC pode ser visto na resolução de três destes compostos (estragol, metil eugenol e calameneno), os quais co-eluíram na primeira dimensão. A importância da resolução e correta identificação destes compostos na segunda dimensão da GC×GC, pode ser verificada através dos efeitos antagônicos relacionados ao (i) potencial genotóxico do estragol e efeito neuroprotetivo do cubebeno e (ii) capacidade iniciadora de carcinoma hepatocelular do metil eugenol e possibilidade da indução de resposta imune ao câncer do calameneno. Cabe salientar que o estragol e metil eugenol foram encontrados apenas no funcho e anis, respectivamente, o que caracteriza uma diferença importante entre estes dois frutos.

Agradecimentos: CNPq, FAPERGS e CAPES pelo apoio financeiro e bolsas de estudo. A Leco EUA pela atualização de software.



SEÇÃO J



DETERMINAÇÃO DE HORMÔNIOS ESTRÓGENOS EM EFLUENTES VIA HPLC DAD

Clovis Lucio da Silva*, Viviane do Nascimento Bianchi*,
Elizabete Campos de Lima*

**Universidade Federal do ABC, Centro de Ciências Naturais e Humanas,
Av. Dos Estados, 5001, Bloco B Lab. 204, Cep 09210-580, Santo André, SP, Brasil
elizabete.lima@ufabc.edu.br*

Os hormônios β -Estradiol, estrona, estriol e 17α -etinilestradiol vêm sendo detectados em efluentes porque os atuais processos de tratamento de esgotos são incapazes de removê-los, sendo uma parte descartada em corpos receptores. Estas substâncias causam danos à saúde humana e ambientais por isso o seu monitoramento é necessário. No presente trabalho desenvolveu-se uma metodologia SPE utilizando cartuchos C18 e uma metodologia HPLC para a determinação simultânea desses hormônios em amostras de efluentes. A análise HPLC foi realizada em modo isocrático, fase móvel 50% ACN:H₂O pH 3,0; coluna C18, fluxo 1mLmin⁻¹, injeção 10 uL, comprimento de onda = 281nm, T = 40°C. Os limites de quantificação variaram de 3,75 ug/L para o 17α -etinilestradiol a 7,75 ug/L para o estriol. Os limites de detecção variam de 1,12 ug/L para o 17α -etinilestradiol a 2,32 ug/L para o estriol. Na faixa de 0 a 60ug/L os hormônios analisados apresentaram coeficientes de correlação $R^2 > 0,99$. A precisão (inter e intra-ensaio) avaliada em 4 diferentes níveis de concentração apresentou coeficiente de variância (%CV) e exatidão inferiores a 3%. Foram realizados diferentes testes de extração SPE mostrando que o condicionamento utilizando-se acetonitrila, eluição com metanol mostrou valores de recuperação superiores a 75%. A metodologia validada foi aplicada na análise de uma amostra de efluente do córrego Tubarão (Santo André, SP) destacando-se a presença dos hormônios estriol 0,4 μ g/L e estrona 0,32 μ g/L. A metodologia proposta apresenta-se adequada para a determinação de hormônios estrógenos em efluentes.

Fapesp processo 2013/12569-8, UFABC, Chemical Trends.

DETERMINAÇÃO DE PPCPS E AGROTÓXICOS NA ÁGUA DO MUNICÍPIO DE RIO GRANDE/RS

Antunielle Schneider¹, Caroline Rombaldi¹, Marcos E.G. Paulista¹,
Jean L.O. Arias¹, Ayrton F. Martins², Ednei G. Primel¹

¹Laboratório de Análise de Compostos Orgânicos e Metais – LACOM,
Universidade Federal do Rio Grande – FURG, ²Universidade Federal de Santa Maria - UFSM
antunielle.schneider@furg.br

Alguns contaminantes têm sido detectados recentemente em amostras de água, dos quais podemos destacar os produtos farmacêuticos, cosméticos e de higiene pessoal (PPCPs). As principais fontes poluidoras por PPCPs são os esgotos hospitalares, produção industrial e efluentes domésticos. Além desses contaminantes, os agrotóxicos, empregados na agricultura com o objetivo de eliminar ou controlar pragas nas plantações, vem sendo detectados em amostras ambientais. Devido à importância da determinação destes contaminantes em amostras de água, principalmente no que diz respeito ao consumo humano, o objetivo deste trabalho foi a análise simultânea de 18 PPCPs e 33 agrotóxicos em águas de superfície e de abastecimento no município de Rio Grande, empregando a técnica de extração em fase sólida (SPE) e a determinação por cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas em série (LC-ESI-MS/MS). O método utilizado foi validado, e apresenta valores de exatidão e precisão adequados para o estudo proposto.¹ As amostragens foram realizadas mensalmente na estação de tratamento de água do município de Rio Grande, sendo coletadas amostras de água antes e após o tratamento. As amostras foram divididas em duas alíquotas, uma teve o pH ajustado à 3, com ácido fosfórico 1:1 (v/v), e em outra alíquota o pH não foi alterado. Após o condicionamento dos cartuchos, as amostras (250 mL) foram percoladas por cartuchos de C18 para a extração e pré-concentração dos analitos. A etapa de eluição foi realizada com duas alíquotas de 1000 µL de metanol e a determinação dos compostos estudados foi feita por LC-MS/MS. Foi utilizada uma coluna Kinetex C18 (50 x 30 mm, 2,6 µm) e fase móvel composta por metanol e água acidificada com ácido acético 0,1% no modo de eluição gradiente. A determinação dos compostos foi realizada no período de fevereiro/2012 à fevereiro/2014. Foram detectados contaminantes tanto na água de abastecimento quanto na água de superfície, geralmente em maior concentração na água não tratada, em sua maioria abaixo do limite de quantificação. Em algumas amostragens foram observados concentrações maiores que o permitido pela legislação europeia, porém menores que a legislação brasileira.

Referências:

¹ Caldas et al.; Determination of pharmaceuticals, personal care products, and pesticides in surface and treated waters: method development and survey; Environmental Science and Pollution Research, 20, 2013, 5855-5863.

Agradecimentos: CORSAN, CNPq, FURG, CAPES, FINEP e FAPERGS.



CARACTERIZAÇÃO DE FASES ESTACIONÁRIAS UTILIZANDO A CROMATOGRAFIA COM FLUIDO SUPERCRÍTICO

Carla G. A. da Silva (PQ)*, Isabel C. S. Fontes Jardim e Carol H. Collins (PQ)

*Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas,
Campinas, SP, Brasil
carlag@live.com*

O método da relação quantitativa entre estrutura e retenção (do inglês, quantitative structure-retention relationship, QSRR) é o mais utilizado para caracterização de fases estacionárias utilizando a cromatografia com fluido supercrítico. Para obter informações de caracterização a partir desse método é necessário um conjunto suficientemente grande de solutos e com propriedades físico-químicas adequadas que descrevam as propriedades a serem investigadas. Dentre os QSRR que utilizam os descritores de Abraham et al.^[1], o modelo dos parâmetros de solvatação é o que merece maior destaque. Nesse modelo, a retenção de um grupo específico de solutos pode ser descrita pela equação: $\log k = c + eE + sS + aA + bB + vV$. Nessa equação, as letras maiúsculas representam os descritores dos solutos, relacionados às propriedades de interação específicas, enquanto as letras minúsculas representam as constantes do sistema cromatográfico, relacionadas aos efeitos complementares entre as fases, nas quais ocorrem essa interação. O termo c é o intercepto do modelo, o qual descreve a razão entre os volumes de fase (FM e FE). Segundo a equação do modelo, E é o excesso de refração molar (calculado pelo índice refrativo da molécula), S é a polarizabilidade/dipolarizabilidade, A e B são a acidez ou basicidade, respectivamente, V é o volume característico de McGowan em $\text{cm}^3\text{mol}^{-1}/100$. As constantes do sistema (e , s , a , b e v), obtidas através da aplicação de uma regressão multilinear dos fatores de retenção dos solutos para os quais os descritores são conhecidos, refletem a magnitude da diferença dessa propriedade estudada entre fase estacionária e fase móvel. Neste trabalho, algumas fases estacionárias para cromatografia líquida de alta eficiência clássicas de fase ligada do tipo C18, C8 e fases com seletividade diferenciada como fenil fluorada foram avaliadas utilizando o modelo dos parâmetros de solvatação em condições subcríticas com diferentes modificadores orgânicos como metanol, acetonitrila, etanol, isopropanol, etc. (10% de modificador orgânico). Os resultados revelaram diferentes perfis de separação cromatográfica baseada nos fatores de retenção e diferentes seletividades dependendo do tipo de fase estacionária e de modificador orgânico utilizado.

Referências bibliográficas

[1] M. H. Abraham, A. Ibrahim, A. M. Zissimos, J. Chromatogr. A 1037 (2004), 2.

Agradecimentos - FAPESP, CNPq e Capes.

CARACTERIZAÇÃO DE SUBSTÂNCIAS VOLÁTEIS ORGÂNICAS EM SOLO COM DISTINTAS COBERTURAS VEGETAIS POR SPME

Leonardo S. Pereira¹; Rafael F. Silva²; Antonio J. T. Guerra¹;
Claudia M. Rezende²; Maria do Carmo O. Jorge¹

¹UFRJ, Departamento de Geografia, Instituto de Geociências, CCMN

² UFRJ, Instituto de química, CT - Avenida Ethos da Silveira Ramos, CEP 21941-611

leospgeo@gmail.com

A disponibilidade de matéria orgânica no solo é considerada um dos principais indicadores de sustentabilidade e qualidade ambiental. Contudo, torna-se importante identificar essas substâncias para o adequado diagnóstico da dinâmica e funcionalidade do solo. A pesquisa teve como objetivo geral elaborar um diagnóstico ambiental por meio da caracterização química do solo com distintas coberturas vegetais. Especificamente, o estudo fez uma análise quantitativa das taxas de matéria orgânica no solo e, também, qualitativa, caracterizando as substâncias voláteis orgânicas dos distintos solos. O estudo se desenvolve na bacia do rio Maranduba, em Ubatuba/SP. A área está inserida em bioma de mata Atlântica e apresenta paisagens em diferentes temporalidades, com áreas urbanas e rurais. Foram coletadas amostras de solo em distintos ambientes de cobertura vegetal: área degradada (AD), baixo índice de vegetação, em grande parte solo exposto e vegetação de gramínea; área de transição com a floresta (TF), vegetação de meio a um metro de altura; e área de floresta (FL), presença de árvores de grande porte e maior diversidade vegetal. Para as análises das taxas de matéria orgânica (M.O.) foi utilizado o método da EMBRAPA (1997). A análise foi elaborada em triplicata com 0,5g de solo. As análises da caracterização das substâncias voláteis orgânicas do solo foram elaboradas em triplicata em três etapas: 1° - extração dos voláteis que foi realizada por meio da técnica de microextração em fase sólida (SPME; com fibra DVB/CAR/PDMS). Em um frasco de 20 mL de capacidade foram colocados 5g de solo e 10 mL de água destilada. A extração foi realizada sob temperatura de 60 °C. O solo foi mantido no frasco vedado por 1h, após este período a fibra foi exposta ao espaço de ar confinado do frasco (headspace), onde permaneceu por 22,5 min. A dessorção durou 3 min com injetor (250 °C) em modo sem divisão de fluxo; 2° - análise CG/EM, foi utilizada uma coluna capilar de sílica fundida (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm), com fase DB-1. O hélio foi utilizado como gás de arraste com fluxo de 1,0 mL/minuto. Programa de temperatura do forno 40-240 °C, a uma taxa de 3°C/minuto. 3° - identificação das substâncias foi realizada por comparação de seu espectro de massas experimental com o da base Wiley Registry of Mass Spectral Data (1994), bem como de seu índice de retenção linear, após injeção de uma série homóloga de n-alcenos (C7-C26) nas mesmas condições supracitadas e comparadas às informações da literatura. Os resultados salientam que TF possui menor taxa de M.O. (em média 0,6%), em detrimento com AD e FL (1,6 e 4,3%, respectivamente). Contudo, AD apresenta menor diversidade de substâncias orgânicas no solo (3 no total) ao comparar com TF e FL (10 e 29 substâncias, respectivamente). A maior diversidade de substâncias voláteis foi encontrada em FL, no qual foram identificados ácidos, aldeídos, hidrocarbonetos e terpenos.

Agradecimentos: CAPES; CNPq.



EXTRAÇÃO SÓLIDO-LÍQUIDO PARA ANÁLISE POR HPLC-DAD DE PESTICIDAS EM SOLO PARA FITORREMEDIAÇÃO

Ramborger, B.P.¹, Zago, M.L.C.¹, Rosa, A.S.¹, Denardin, E.L.G.¹, Roehrs, R.¹

¹Universidade Federal do Pampa - UNIPAMPA, Uruguaiana-RS

bruna-pr@hotmail.com

Introdução: Os pesticidas são definidos como um vasto grupo de compostos químicos sintéticos ou naturais utilizados no controle de pragas que atacam culturas agrícolas. Após serem depositados na superfície do solo, podem ser transportados pela água da enxurrada, contaminando rios e lagos, ou então, lixiviados possibilitando a contaminação de fontes de água subterrâneas. A determinação de resíduos de pesticidas é uma tarefa difícil porque o solo é uma matriz analítica complexa e variável, o que torna as técnicas de preparo de amostra e extração, cruciais para avaliar e otimizar o melhor método para sua análise. A partir do exposto, o presente trabalho tem o objetivo de desenvolver um método de extração e de análise por HPLC-DAD para os pesticidas Quincloraque, 2,4-D, Bentazone, Clomazone, Propanil e Tebuconazole, utilizados em plantações de arroz em amostras de solo para que, posteriormente, sejam analisados através da fitorremediação com mudas de *Melissa officinalis*. **Metodologia:** Dez gramas de solo foram fortificados com o padrão misto dos pesticidas e mantidos sob refrigeração por 24 h em frascos de Erlenmeyer fechados. Foram adicionados 20 mL de metanol/acetato de etila (50:50 v/v) e submetidos a agitação orbital por 15 minutos. O extrato foi filtrado e lavado com a mesma solução extratora (2 x 5 mL). A solução obtida foi acidificada com ácido fosfórico (1:1) e evaporada em rota evaporador à 40°C até quase sua secura sendo ressuspensionado a um volume de 1,5 mL de acetonitrila. Após, foi filtrado com filtros de 0,22 µm e transferido à um frasco (vial) para análise em HPLC. Para a análise cromatográfica foi utilizado um HPLC-DAD da marca Young Lin modelo 9100 com detector por arranjo de diodos e coluna Synergi, 4µFusion – RP80A (250x4,6 mm) da Phenomenex. Todos os procedimentos foram feitos em triplicata. **Resultados e Discussão:** Para a fase móvel, fluxo e tempo de programação obtivemos os melhores resultados com acetonitrila/metanol/água pH 3, com um sistema de gradiente 0-11 min à uma composição de fase móvel de 20:24:56 com fluxo de 0,9 ml/min e de 25:34:41 para 11-22 min com um fluxo de 1,0 ml/min. A recuperação dos pesticidas foi entre 89,3% e 126,9%, já o RSD foi de 3,37 à 7,80 para fortificação do padrão misto de 10 mg.L⁻¹. **Conclusão:** O método mostrou ser efetivo, sensível e barato, consumindo apenas 30 mL de solvente para extração. Os resultados mostram que é possível quantificar com segurança os seis pesticidas e estudar sua fitorremediação por *M. officinalis*. A extração foi efetiva para os pesticidas e os interferentes do solo não prejudicaram nas análises cromatográficas dos pesticidas.

Agradecimentos: FAPERGS e UNIPAMPA.

PHYTOREMEDIATION OF PESTICIDES IN WATER USING HYDROPONIC CULTIVATION OF LETTUCE

Zago, M.L.C.¹; Rosa A.S.¹; Ramborger, B.P.¹; Denardin, E.L.G.¹; Roehrs, R.¹

¹Universidade Federal do Pampa, Unipampa,
Campus Uruguaiiana, Uruguaiiana -RS, Brazil
maluzago@hotmail.com

Introduction: Pesticides are used in modern agriculture for pest control, consequently increasing the productivity. Irrigated rice is one of the most important crops in the State of Rio Grande do Sul, Brazil, and in most farms pesticides are applied after irrigation, directly in the water. The Phytoremediation consists in the use of plants and their associated microorganisms for cleaning polluted environments. It is one of the methods considered as an alternative to water treatment process. This study aims to evaluate the phytoremediation of water containing pesticides (2,4-D and clomazone) recommended for irrigated rice by using hydroponic lettuce. **Material and Methods:** The solution with nutrients was added to water with the hidroponiccultive of lettuce. The seedlings were grown for 10 days to adapt to the culture medium and on the 10th day the medium was fortified with 2 pesticides, standards at concentration final of 50 µg /L. Water samples were collected after 7 and 14 days after fortification. Cultivation medium samples were collected and extracted using solid phase extraction (SPE) Strata C18-E[®] (55 µm, 500 mg) and analyzed by high efficiency liquid chromatography with diode array detector (HPLC-DAD, YL9100). **Results and Discussion:** After adding pesticides, during the first week the treatment decreased significantly lettuce growth. From the 7th to the 14th day, some plants died. For this herbicide – 2,4D – there was a significant decrease in the amount of pesticides found until 14 days in relation to the initial control. The results show a decrease of 41% in 2,4-D concentration compared to the control on the 14th day. Clomazone showed the same results, a degradation of 42% compared to start day. **Conclusions:** This research showed that the hydroponic cultivation of lettuce can be an efficient and low cost effective strategy for phytoremediation of the pesticides studied.

Agradecimentos: FAPERGS e UNIPAMPA.



DETERMINAÇÃO DE GASES DE EFEITO ESTUFA COM SISTEMA AUTOMÁTICO DE INJEÇÃO E FORNO AUXILIAR

Cristiane de Oliveira Silva, Henrique Franciscato Melo,
Danilo Vinicius Pierone

Nova Analítica, São Paulo, SP, Brasil
henrique.melo@novanalitica.com.br

As variações de concentração dos gases de efeito estufa (GEE) na atmosfera são usualmente determinadas por cromatografia a gás e empregadas no cálculo das taxas de emissão ou absorção. Os GEE considerados nas estimativas de emissões são: dióxido de carbono (CO_2), óxido nitroso (N_2O), metano (CH_4), hidrofluorcarbonetos (HFC), perfluorcarbonetos (PFC) e hexafluoreto de enxofre (SF_6) que, por causa das suas propriedades físico-químicas diferentes, são analisados com o emprego de detectores cromatográficos distintos. O CH_4 e o CO_2 convertido a CH_4 são usualmente determinados com o detector de ionização em chama (FID) e o N_2O e os flúor derivados com o detector de captura de elétrons (ECD). Embora a cromatografia em fase gasosa seja altamente confiável e adequada para a separação, detecção e quantificação dos GEE, esta técnica impõe limitações quanto ao número de amostras que podem ser analisadas em um curto período de tempo. Um sistema cromatográfico automático, desenvolvido especificamente para a determinação de GEE em amostras de ar, foi empregado neste estudo. O sistema é composto por um amostrador automático, um conjunto de válvulas de acionamento programado e automático, um metanador e os detectores FID e ECD. Neste trabalho, o injetor automático foi adaptado para operar com os vials empregados na coleta de amostras de ar em campo (vials LABCO de 12 mL). Além dos detectores FID e ECD, um detector TCD foi montado em série com o FID, para a determinação do oxigênio e nitrogênio do ar. Esta configuração do cromatógrafo com três detectores possibilita a análise completa de uma amostra com apenas uma injeção. O desenvolvimento do método analítico, com o ajuste das condições cromatográficas ideais, permitiu uma redução de cerca de 30% no tempo de análise e aumentou a capacidade de amostra - grandes lotes de amostras podem ser analisados de modo autônomo. A confiabilidade dos resultados obtidos com este sistema cromatográfico foi comprovada por uma boa repetitividade de área (DPR = 0,8% para ng/mL e 1,4% para pg/mL), linearidade ($r > 0,99$) e baixos limites de detecção (4 pg/mL para SF_6 e 33 ng/mL para N_2O) e quantificação (43 pg/mL para SF_6 e 32,8 ng/mL para N_2O).

Agradecimentos: Ao Prof. Dr. Paulo H.M. Rodrigues, do Depto Nutrição&Produção Animal, USP, Pirassununga e à Embrapa São Carlos, pela colaboração.

MÉTODO RÁPIDO PARA DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE HERBICIDAS IMIDAZOLINONAS EM SOLO POR UHPLC-MS/MS

Magali Kemmerich, Gabrieli Bernardi, Martha B. Adaime,
Renato Zanella, Osmar D. Prestes*

*Laboratório de Análises de Resíduos de Pesticidas, Departamento de Química,
Universidade Federal de Santa Maria, 97105-900, Santa Maria-RS, Brasil
osmar.prestes@ufsm.br*

O solo é uma matriz complexa e heterogênea, constituída de quantidades variáveis de minerais, matéria orgânica, água, ar e organismos vivos. Esta grande variabilidade das propriedades dificulta a extração de resíduos de agrotóxicos desta matriz. Um grupo de herbicidas em particular, as imidazolinonas, é amplamente utilizado para controle em pré e pós-emergência de plantas daninhas de culturas como: arroz, soja e outras leguminosas, sendo absorvido por folhas e raízes, persistindo no solo. A fim de determinar estes compostos em amostras de solo, diferentes métodos têm sido propostos. O emprego da Cromatografia Líquida de Ultra-Performance acoplada à Espectrometria de Massas em série (UHPLC-MS/MS) permite uma análise rápida e robusta. Esta técnica quando associada a um preparo de amostra eficiente fornece resultados precisos e com alta robustez. O objetivo deste trabalho foi desenvolver um método rápido e simples para a determinação de resíduos de 5 imidazolinonas (imazamox, imazapique, imazapir, imazaquin e imazetapir) em amostras de solo, empregando o método UHPLC-MS/MS. No preparo da amostra utilizou-se 5 g de solo e adição de 10 mL de uma solução aquosa de acetato de amônio (0,5 mol/L), seguida de agitação e centrifugação. Para limpeza do extrato, transferiu-se 2 mL do extrato para tubo contendo PSA, agitou-se e centrifugou-se. Filtrou-se os extratos com filtro de nylon 0,2 μm e diluiu-se para injeção no sistema cromatográfico. As curvas analíticas para os compostos analisados apresentaram faixa linear entre 0,5 e 20 $\mu\text{g/L}$ com valores de coeficiente de determinação maiores que 0,99 para todos os compostos analisados. Os valores de LOD e LOQ do método foram de 3,33 e 10 $\mu\text{g/kg}$, respectivamente. Amostras branco foram fortificadas nos níveis de 10, 50 e 100 $\mu\text{g/kg}$ e as recuperações foram avaliadas. Valores satisfatórios de recuperação (70 a 93%) foram obtidos para todos os compostos analisados, com valores de RSD \leq 14%. Analisou-se 10 amostras com pH variando de 4,3 a 7,3; o processo de extração mostrou-se eficaz, e não foram encontrados resíduos das imidazolinonas nas amostras. Dada a complexidade da matriz e dos compostos que dependem fortemente do pH para sua extração, o método desenvolvido e validado neste trabalho pode ser empregado em análises de rotina com rapidez e confiabilidade.

Agradecimentos: CNPq, Capes, FINEP e Ministério do Meio Ambiente.

MÉTODO MULTIRESÍDUO PARA DETERMINAÇÃO DE AGROTÓXICO E POPS EM ÁGUA POR GC-MS/MS

Mariela de Souza Viera, Giovana Ferronato, Osmar Damian Prestes,
Martha Bohrer Adaime, Renato Zanella*

*Laboratório de Análise de Resíduos de Pesticidas, Departamento de Química
Universidade Federal de Santa Maria, 97105-900, Santa Maria-RS, Brasil
rzanella@base.ufsm.br*

Para monitorar a eficácia das propostas da Convenção de Estocolmo, que visa eliminar o uso de compostos orgânicos persistentes (POPs), foi criado o Programa de Monitoramento Global que consiste em analisar três matrizes: leite materno, sangue humano e água. A presença de POPs em águas superficiais está relacionada à dinâmica dos sistemas hídricos, pela bioacumulação na cadeia alimentar, deposição atmosférica e a volatilização a partir dos sedimentos. No Brasil o Ministério da Saúde por meio da portaria 2914 estabelece limites máximos de resíduos (LMR) em água potável para alguns POPs e agrotóxicos comumente utilizados na agricultura. Uma das técnicas de extração normalmente utilizadas para análise de resíduos de agrotóxicos em água é a Extração em Fase Sólida (SPE). Desta forma, o objetivo deste trabalho foi desenvolver e validar um método analítico para a determinação de resíduos de 33 compostos (POPs e agrotóxicos) em água potável com limites de quantificação de acordo com os menores LMR estabelecidos pela portaria 2914, utilizando SPE para o preparo de amostra e determinação por GC-MS/MS. Para a etapa de extração e concentração dos analitos foram avaliados dois tipos de cartuchos disponíveis comercialmente: Strata® C18 500 mg e Oasis® HLB 60. Foram testadas três eluições: (1) 2 mL metanol: acetonitrila 1% ácido acético (1:1); (2) 1 mL diclorometano e 1 mL metanol; (3) 2 mL acetato de etila. O método otimizado utilizou 100 mL de amostra acidificada em pH 3,0, concentrada em cartucho Oasis® HLB 60 mg e eluição com 2 mL de acetato de etila. Uma alíquota de 1,5 mL foi evaporada e redissolvida em 150 µL de acetonitrila, resultando num fator de concentração do método de 500 vezes. Este procedimento foi validado para 30 compostos com valores de LOD de 0,009 a 0,03 µg/L e LOQ de 0,03 a 0,1 µg/L, faixa linear obtida para os compostos validados ficou entre 5 e 200 µg/L e $r^2 > 0,97$. Recuperações entre 71,3% e 119,4% com o RSD $\leq 19,7\%$ foram obtidos para todos os compostos validados. Os compostos não validados como alacloro, HCH beta e pirimifós metílico apresentaram recuperações maiores que 120%, indicando a ocorrência de efeito matriz. O método foi aplicado em amostras coletadas no interior do estado do RS. Considerando-se os resultados obtidos, pode-se afirmar que o método pode ser aplicado em análise de rotina, com potencial para ser implementado em programas de monitoramento de resíduos de POPs e agrotóxicos em água potável.

Agradecimentos: Ministério do Meio Ambiente, CAPES, FINEP e CNPq.

DETERMINAÇÃO DE POPS EM LEITE MATERNO, EMPREGANDO MÉTODO QUECHERS E GC-NCI-MS

Giovana Ferronato, Mariela de Souza Viera, Osmar D. Prestes,
Martha B. Adaime, Renato Zanella*

*Laboratório de Análise de Resíduos de Pesticidas, Departamento de Química
Universidade Federal de Santa Maria, 97105-900, Santa Maria- RS, Brasil
rzanella@base.ufsm.br*

Os Poluentes Orgânicos Persistentes (POPs) recebem essa denominação devido ao tempo que permanecem inalterados no meio ambiente. A partir dos anos 1960 havia indícios da presença desses compostos em sedimentos, leite materno, peixe e ovos. A cadeia alimentar pode ser considerada uma fonte de contaminação do ser humano por esses compostos devido à bioacumulação. A gordura contida no leite materno pode acumular os POPs, por isso esta matriz vem sendo utilizada como bioindicador ambiental. Os métodos disponíveis atualmente para a quantificação desses compostos em leite materno envolvem várias etapas de preparo de amostra e determinação por técnicas pouco seletivas, apresentam alto custo e demanda de tempo. Assim, esse trabalho visou o desenvolvimento de um método rápido e eficiente baseado no preparo de amostra empregando o método QuEChERS combinado a Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas com ionização química negativa (GC-NCI-MS). Neste trabalho otimizou-se a etapa de preparo de amostra para a determinação de 15 POPs (HCH alfa, HCH beta, HCH gama, hexaclorobenzeno, heptacloro, andrin, dieldrin, endrin, 2,4 DDE, DDT, endosulfan alfa, endosulfan beta, endosulfan sulfato e mirex) em leite materno utilizando extração com acetonitrila. Na etapa de partição utilizou-se $MgSO_4$ e NaCl. A limpeza do extrato foi realizada utilizando extração em fase sólida dispersiva de 4 mL de extrato, $MgSO_4$ e C18, seguido de centrifugação. O extrato foi evaporado em sistema Turbovap e redissolvido em 200 μ L de acetonitrila para determinação por GC-NCI-MS. O método foi validado apresentando $r^2 > 0,99$ para os 15 compostos em estudo e recuperações dos analitos entre 62 e 120%, com valores de precisão dentro da faixa aceitável ($RSD < 19\%$). Os limites de detecção (LOD) do método para leite materno em termos de percentual de gordura variaram de 0,75 a 7,5 ng/g e os limites de quantificação (LOQ) do método variaram de 2,5 a 25 ng/g. O método foi aplicado para 20 amostras de leite materno de diferentes regiões do estado do Rio Grande do Sul, das quais, apenas 25% não apresentaram contaminação pelos compostos estudados, as demais apresentaram valores menores que o LOQ. Destaca-se que é um trabalho inédito na área de determinação de POPs em leite materno empregando GC-NCI-MS, podendo servir de base para trabalhos futuros nessa área.

Agradecimentos: Ministério do Meio Ambiente, CAPES, FINEP e CNPq.



DETERMINAÇÃO DE BIFENILAS POLICLORADAS (PCBS) EM SEDIMENTO UTILIZANDO GC-MS/MS

Maiara P. de Souza, Débora Orso, Gabrieli Bernardi, Osmar D. Prestes,
Martha B. Adaime e Renato Zanella*

*Laboratório de Análises de Resíduos de Pesticidas, Departamento de Química,
Universidade Federal de Santa Maria, 97105-900, Santa Maria-RS, Brasil
rzanella@base.ufsm.br*

Bifenilas Policloradas (PCBs) são compostos pertencentes ao grupo químico dos poluentes orgânicos persistentes (POPs). A distribuição e dispersão dos PCBs ocorre principalmente através do ar, água, solo e sedimentos e podem também ser detectados em alimentos com alto teor de lipídeos. As técnicas de preparo de amostra mais comuns para determinação desses compostos são baseadas na extração com diferentes solventes orgânicos, como por exemplo, diclorometano, hexano, acetona ou a mistura dos mesmos. O objetivo deste trabalho foi desenvolver um método para determinar 24 PCBs em amostras de sedimentos através do emprego de uma mistura de solventes orgânicos. Inicialmente pesou-se 5 g de sedimento previamente seco em estufa a 105 °C, por aproximadamente 30 min. Posteriormente, realizou-se o procedimento de extração utilizando 20 mL da solução de hexano:diclorometano (3:1, v/v), seguido de agitação em vortex por 1 min. Após essa etapa, as amostras foram colocadas em um banho ultrassom (40 Hz) durante 30 min, na temperatura de 30 °C e posteriormente centrifugadas por 8 min a 3400 rpm. Em seguida, o sobrenadante foi transferido para um tubo evaporador, enquanto no sedimento remanescente adicionou-se 3 mL de diclorometano (3x) para lavagem completa dos extratos; o sobrenadante obtido na limpeza foi juntamente adicionado aos tubos evaporadores. Após, evaporou-se as amostras em sistema TurboVap até secura total. Por fim, realizou-se a etapa de limpeza em 4 mL de extrato, empregando sulfato de magnésio e C18, com posterior agitação do extrato por 1 min em vortex e centrifugação durante 5 min a 3400 rpm. Os extratos foram filtrados em filtros de 0,2 µm de diâmetro e injetados no sistema GC-MS/MS. Os parâmetros analíticos avaliados foram: linearidade, limite de detecção (LOD), limite de quantificação (LOQ), exatidão, precisão e efeito matriz. Os resultados do método foram adequados obtendo-se uma recuperação na faixa de 72-116% e RSD ≤ 19,7%. Os valores de LOD e LOQ do método foram de 0,15 e 0,5 µg/kg, respectivamente. O método aplicado para a análise de 10 amostras de sedimento apresentou uma concentração de PCBs que variou entre <LOQ e 8,38 µg/kg. Sendo assim, o método proposto mostrou-se adequado para a análise de PCBs em diferentes amostras de sedimento.

Agradecimentos: CNPq, CAPES e FINEP.

AIR MONITORING - THE RESPECTIVE ADVANTAGES AND APPLICATIONS OF CANISTERS AND TUBES

Chris Llewellyn¹, Nicola Watson¹ and Danilo Pierone²

¹Markes International Ltd, Gwaun Elai Medi Science Campus, Llantrisant, RCT, CF72 8XL, UK

²Nova Analítica, São Paulo, SP, BR

danilo.pierone@novanalitica.com.br

Volatile (vapor-phase) organic air toxics or ‘Hazardous Air Pollutants’ (HAPS) are monitored in many industrial and urban environments as a measure of air quality. They range in volatility from methylchloride to hexachlorobutadiene & trichlorobenzenes and include some polar as well as apolar compounds. Several national and international standard methods have been developed for air toxics and related air monitoring applications. Key examples include: US EPA Method TO-17 and TO-15, ASTM D-6196-03 and D-5466, ISO EN 16017 and ISO EN 16000-6. All these standards specify air sampling using either canisters or sorbent tubes with subsequent analysis by thermal desorption (TD)–GC-MS. In response to increasing demand for ambient air toxics monitoring around the world, cryogen-free TD technologies have now been developed which offer an automated, method-compliant analytical platform for both canisters and tubes. The latest systems typically feature innovations such as repeat analysis for sorbent tubes together with internal standard addition options for both canister and tube operation. As evidenced by US EPA Methods TO-15 and TO-17, both canisters and sorbent tubes are compatible with air toxics in typical ambient concentrations i.e. at 0.1 to 25 ppb levels. However, for compounds outside the methylchloride to hexachlorobutadiene range and for other air monitoring applications there are differences between the two sampling methods which can make one technology more suitable than the other for a particular situation. In effect, canisters and sorbent tubes provide complementary sampling technology allowing analysts equipped with both to address a larger range of air monitoring applications than either method on its own. This work presents in detail the technical features of tubes and canisters and respective air monitoring applications. A summary of canisters and sorbent tubes advantages for different air monitoring applications is presented. The two sampling techniques are evaluated for: volatility of the investigated compounds, practical/operating differences between the two techniques, cleaning procedures and cleaning costs/time considerations.



DETERMINAÇÃO DE SULFONAMIDAS PRESENTES EM LODO DE ESGOTO UTILIZANDO QuEChERS E LC-TOF

Maraíssa Silva Franco, Edvaldo Vasconcelos S. Maciel,
Álvaro José dos Santos-Neto, Fernando Mauro Lanças

*Laboratório de Cromatografia, Instituto de Química de São Carlos,
Universidade de São Paulo, São Carlos-SP, Brasil
maraisa@yahoo.com.br*

Diante da crescente preocupação ambiental, pesquisas vêm sendo realizadas com o propósito de identificar e quantificar possíveis contaminantes presentes em água, solo e ar. Uma nova classe de poluentes, denominados de poluentes emergentes, vem ganhando atenção da comunidade científica, em exemplo a dos fármacos, dentro dos quais, as sulfonamidas se destacam por serem frequentemente encontradas no meio ambiente devido à ampla utilização tanto na medicina humana como animal. No dias atuais, muitas são as buscas por técnicas que reduzam a quantidade de solvente orgânico e o tempo total de extração, atendendo assim aos princípios estabelecidos pela nova tendência referenciada por “Green-Chemistry”. Com este propósito, desenvolveu-se metodologia QuEChERS para a extração de 9 sulfonamidas (sulfacetamida, sulfametazina, sulfadiazina, sulfametizol, sulfamerazina, sulfametoxazol, sulfatiazol, sulfametoxina e sulfaclopirida) em lodo de esgoto com separação e detecção por LC-ESI-TOF. Para separação analítica, fez-se uso de um HPLC série Prominence 20AD da Shimadzu, coluna cromatográfica Agilent C18 (2,1 mm x 100 mm x 2,7 μm), volume de injeção 5,0 μL , temperatura do forno 40 $^{\circ}\text{C}$, vazão 0,25 mL min^{-1} e fase móvel composta por ACN e H_2O ambos a 0,1 % de ácido fórmico. Utilizou-se um espectrômetro de massas híbrido (QqTOF), Bruker, modelo micrOTOF-Q II, funcionando no modo full MS. A fonte de electrospray operou no modo positivo de ionização, voltagem do capilar de 3,5 kV, pressão do nebulizador de 4,0 bar, vazão do gás secante de 8,0 L min^{-1} e temperatura da fonte 200 $^{\circ}\text{C}$. As variáveis independentes da etapa de extração foram avaliadas de acordo com planejamento de experimentos (proporção de ACN e H_2O como solvente de extração, volume de solvente, proporção de NaCl e quantidade de MgSO_4), sendo significativas para o aumento da eficiência de extração a proporção de água e acetonitrila utilizadas como solventes de extração e quantidade de MgSO_4 . A melhor condição de extração foi obtida com 4,0 g de amostra, 8,0 mL de solvente na proporção 80% ANC (0,1% ácido fórmico) e 20% H_2O , 30% de NaCl (m/v) e 40 mg de MgSO_4 . Assim, o método foi validado de acordo com as diretrizes da Resolução RE nº 899 (ANVISA) demonstrando precisão e exatidão satisfatórias para todos os analitos. A faixa linear obtida foi 25 – 1000 $\mu\text{g kg}^{-1}$ para maioria dos compostos, com DPR (%) máximo, para alguns analitos, de 22%.

Agradecimentos - FAPESP; CNPq e CAPES.

DETERMINAÇÃO MULTIRRESÍDUO DE AGROTÓXICOS E MEDICAMENTOS VETERINÁRIOS EM SOLO POR UHPLC-MS/MS

Filipe F. Donato, Michele C. Vicari, Janice Facco, Manoel L. Martins,
Osmar D. Prestes, Martha B. Adaime, Renato Zanella

*Laboratório de Análises de Resíduos de Pesticidas, Departamento de Química,
Universidade Federal de Santa Maria, 97105-900, Santa Maria-RS, Brasil
rzanella@base.ufsm.br*

Normalmente, o solo é o destino final dos agrotóxicos utilizados na agricultura e dos medicamentos veterinários utilizados na criação de animais. A preocupação mundial com as possíveis consequências do aumento do uso destes compostos se reflete em regulamentações cada vez mais exigentes sobre os níveis de resíduos nos alimentos e no ambiente, com intensificação da demanda por certificação ambiental, redução dos limites máximos de resíduos em alimentos e a introdução de procedimentos que permitam a rastreabilidade nos processos produtivos. Neste estudo, comparou-se diferentes métodos de extração (agitação mecânica, ultrassom e QuEChERS) para a determinação de resíduos de 76 agrotóxicos e 9 medicamentos veterinários em solo utilizando Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência acoplada à Espectrometria de Massas em Série (UHPLC-MS/MS). O método de extração que apresentou os melhores resultados consistiu na pesagem de 10 g de solo, seguido da adição de 10 mL de água e mantido em repouso por 10 min. Em seguida adicionou-se 10 mL de acetonitrila contendo 1% (v/v) de ácido acético e procedeu-se a agitação mecânica por 15 min. Logo após, acrescentou-se sulfato de magnésio anidro e acetato de sódio anidro, agitou-se manual e vigorosamente por 1 min. Posteriormente, o tubo foi centrifugado e o extrato filtrado e diluído (1:4) em água antes da análise por UHPLC-MS/MS. O método foi validado avaliando-se linearidade das curvas analíticas, limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ), efeito matriz, assim como exatidão (recuperação) e precisão (RSD). As curvas analíticas preparadas no solvente e no extrato “branco” da matriz apresentaram linearidade adequada para a maioria dos compostos, com $r^2 > 0,99$, sendo que as curvas analíticas preparadas no extrato “branco” da matriz foram utilizadas para compensar o efeito matriz. Para verificar a exatidão e precisão do método, efetuou-se a fortificação em 10, 25, 50 e 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$, e extração em replicata ($n = 6$), obtendo-se valores de recuperação entre 70 e 120%, com RSD $< 20\%$ para a grande maioria dos compostos. Os valores de LOD e LOQ do método variaram entre 3,0 e 7,5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ e 10 e 25 $\mu\text{g}/\text{kg}$, respectivamente. Após a validação, o método foi aplicado para a determinação de agrotóxicos e medicamentos veterinários em amostras reais, mostrando-se bastante eficiente e adequado para ser aplicado em análises de rotina.

Agradecimentos: CNPq, CAPES, FINEP e Ministério do Meio Ambiente.



AGROTÓXICOS E COMPOSTOS RELACIONADOS EM AR: TRAPEAMENTO EM SORVENTE POLIMÉRICO E USO DE GC-MS/MS

Samile Martel, Filipe F. Donato, Janice F. Facco, Manoel L. Martins,
Osmar D. Prestes, Martha B. Adaime, Renato Zanella*

*Laboratório de Análises de Resíduos de Pesticidas, Departamento de Química,
Universidade Federal de Santa Maria, 97105-900, Santa Maria-RS, Brasil
rzanella@base.ufsm.br*

Enquanto agrotóxicos são aplicados em lavouras com o intuito de controlar pragas e, conseqüentemente, aumentar a produtividade, essas substâncias podem sofrer processos como volatilização, dispersão e transporte, atingindo a atmosfera, solo e água. Assim, o presente trabalho teve como objetivo principal desenvolver e validar um método para a determinação de 48 agrotóxicos e compostos relacionados em ar, baseado na amostragem ativa utilizando um dispositivo de trapeamento home-made, com posterior extração dos analitos com solvente e determinação por Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas em série (GC-MS/MS), bem como demonstrar a aplicabilidade do método proposto em locais de armazenamento e comercialização destes compostos, verificando a exposição dos trabalhadores. O sistema de amostragem consiste de uma bomba de vácuo para forçar a passagem do ar pelos traps, um medidor de vazão para controle do volume de ar amostrado e um conjunto de dois tubos de vidro (traps) com dimensões de 12,5 cm de comprimento x 3 mm de diâmetro interno x 5 mm de diâmetro externo, contendo em ambos sorvente Tenax TA. O segundo trap foi utilizado para garantir que os compostos avaliados não passaram pelo primeiro trap. Utilizou-se o planejamento fatorial para otimização do método de amostragem e eluição, onde as condições definidas foram: vazão de ar 87,5 mL/min, tempo de amostragem de 8 h e volume de acetona para eluição de 5 mL e temperatura da estufa de 60 °C. O extrato foi filtrado e analisado por GC-MS/MS. A exatidão e precisão do método foram verificadas com ensaios de recuperação nas concentrações de 3, 6, 12 e 24 µg/m³, obtendo-se valores entre 70 e 120%, com RSD <20% para a maioria dos compostos avaliados. Valores de LOQ do método foram de 3 ou 6 µg/m³, dependendo do analito, considerado adequado para o controle de exposição desses compostos em ar. O método foi aplicado em empresa que armazena e comercializa agrotóxicos e em ambiente de preparo de padrões em laboratório de análises de resíduos de agrotóxicos. Não foram encontrados resíduos dos compostos estudados nos locais amostrados. O método de amostragem e eluição proposto mostrou ser eficaz para a maioria dos compostos, podendo ser aplicado na determinação de agrotóxicos e compostos relacionados em amostras de ar.

Agradecimentos: CNPq, CAPES, FINEP e Ministério do Meio Ambiente.

VALIDAÇÃO DE MÉTODO PARA DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE FÁRMACOS EM ÁGUA POR SPE E UHPLC-MS/MS

Nathália Saibt, Filipe F. Donato, Tiele M. Rizzetti, Débora Orso,
Osmar D. Prestes, Martha B. Adaime e Renato Zanella*

*Laboratório de Análises de Resíduos Pesticidas, Departamento de Química,
Universidade Federal de Santa Maria, 97105-900, Santa Maria-RS, Brasil
rzanella@base.ufsm.br*

Os fármacos são considerados contaminantes ambientais, devido suas moléculas serem biologicamente ativas. Além disso, a grande maioria dos fármacos possui características lipofílicas e frequentemente apresentam baixa biodegradabilidade. O interesse crescente na determinação desses contaminantes ocorre pelo fato de que eles não são monitorados pelas legislações que regulamentam a qualidade da água potável. Portanto, estes compostos podem ser inseridos em futuras legislações, dependendo das pesquisas sobre sua toxicidade e efeitos nocivos ao meio ambiente e à saúde humana. Neste sentido, o objetivo deste trabalho foi desenvolver e validar um método analítico empregando a técnica de Extração em Fase Sólida (SPE) e UHPLC-ESI-MS/MS para determinação de resíduos de fármacos pertencentes às classes antimicrobianos (tetraciclina, sulfanamidas e macrolídeos) em água. Na extração por SPE testou-se diferentes condições, como por exemplo, tipos de sorventes (Oasis HLB 60 mg e Strata X 200 mg), pH da amostra (com ou sem acidificação), adição da solução de Na₂EDTA 0,1 mol/L e solvente de eluição (metanol ou acetonitrila:metanol (1:1, v/v) com 1% ácido acético). O método de extração otimizado baseou-se na utilização do sorvente Oasis HLB e volume de 100 mL de amostra contendo 400 µL de Na₂EDTA, eluídos com 2 mL de metanol e diluídos 5 vezes para a injeção. Para a determinação dos analitos utilizou-se UHPLC-ESI-MS/MS operando no modo de monitoramento de reações selecionadas (SRM). O modo de eluição utilizado foi por gradiente empregando como fase móvel água e acetonitrila ambas com 0,1% de ácido fórmico. Na etapa de validação do método determinou-se os limites de detecção (LOD) e de quantificação (LOQ), linearidade, precisão e exatidão. Para avaliar a exatidão e precisão utilizou-se diferentes níveis de fortificação (0,2; 0,5; 1,0 e 2,0 µg/L) em seis replicatas. A linearidade do instrumento foi de 0,5 a 150 µg/L para maioria dos fármacos em estudo, com $r^2 \geq 0,99$. Os limites de detecção e quantificação do método para a maioria dos compostos foram de 0,06 e 0,2 µg/L, respectivamente, exceto para os compostos tilosina e azadiractina que apresentaram valores de LOD de 0,15 e LOQ de 0,5 µg/L. Para a maioria dos compostos a recuperação foi entre 70 e 100,9%, com RSD <20%, nos quatro níveis de fortificação avaliados, exceto para o composto tilosina o qual não obteve-se recuperação adequada no nível de fortificação mais baixo. Após a etapa de validação, o método foi aplicado em 17 amostras reais de água, as quais apresentaram concentrações <LOQ para todos os compostos. A determinação de fármacos de diferentes classes químicas em água por SPE e o uso de UHPLC-ESI-MS/MS mostraram ser adequados.

Agradecimentos: Ministério do Meio Ambiente, CNPq, CAPES e FINEP.



INJEÇÃO DIRETA DA AMOSTRA EM ICC E LC-MS/MS PARA DETERMINAÇÃO DE GLIFOSATO E AMPA EM ÁGUA

Fábio da S. de Matos, Filipe F. Donato, Vagner M. Floss,
Manuel L. Martins, Osmar D. Prestes e Renato Zanella

*Laboratório de Análises de Resíduos Pesticidas - LARP, Departamento de Química,
Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, RS
rzanella@base.ufsm.br*

O glifosato [N-(fosfonometil)glicina] é o agrotóxico mais vendido e utilizado na agricultura mundial no controle de plantas daninhas. Altas quantidades desse herbicida e seu principal metabólito, o ácido aminometilfosfônico (AMPA), vem sendo encontrados em água devido ao uso intensivo. A portaria do Ministério da Saúde nº 2914, de 2011, estabelece o valor máximo permitido (VMP) para a soma de glifosato e AMPA em 0,5 mg/L. O método amplamente utilizado para a determinação desses compostos é a HPLC sendo imprescindível uma etapa de derivatização para a detecção por fluorescência. Assim, este trabalho teve como objetivo desenvolver métodos simples e rápidos para a determinação direta de glifosato e AMPA em água para consumo humano, sem etapa de tratamento de amostra ou derivatização, empregando a cromatografia iônica capilar (ICC) e cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas em série (LC-MS/MS). O método por cromatografia iônica capilar empregou coluna capilar IonPac AS19 (250 x 0,4 mm; 7,5 µm), detector de condutividade e sistema de geração de gradiente de eluição com KOH. Para LC-MS/MS utilizou-se coluna Pursuit XRs C18 (150 x 2 mm d.i.; 5 µm), solução aquosa de hidróxido de amônio 0,01% (v/v) como fase móvel e detector 320-MS triplo quadrupolo (TQ) operando no modo de monitoramento de reações selecionadas (SRM). A validação dos métodos foi realizada através de ensaios de recuperação, avaliando exatidão, precisão, linearidade, limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ). As curvas analíticas para glifosato e AMPA obtidas para 5 níveis de concentração (25; 50; 100; 250 e 500 µg/L) por ICC e LC-MS/MS apresentaram $r^2 > 0,99$ para ambos os compostos. Para as fortificações nos níveis de 25, 50, 250 e 500 µg/L os compostos apresentaram recuperações de 79 a 113%, com RSD <7% quando analisado por ICC e recuperações de 78 a 99%, com RSD <20% por LC-MS/MS. Os limites de detecção e quantificação do método para AMPA e glifosato foram de 8 e 25 µg/L, respectivamente, em ambas as técnicas cromatográficas. A determinação através da injeção direta da amostra de glifosato e AMPA utilizando ICC ou LC-MS/MS demonstrou ser uma ferramenta eficiente, simples e economicamente viável para análise, permitindo o monitoramento em níveis abaixo do VMP em água potável. Ambos os métodos apresentaram boa seletividade e sensibilidade para a determinação dos compostos de interesse. A técnica de cromatografia iônica capilar permite a determinação de vários ânions simultaneamente com glifosato e AMPA.

Agradecimentos: FINEP/SIBRATEC-RENALI, FAPERGS.

MÉTODO PARA DETERMINAÇÃO DE NITROGÊNIO, HIDROGÊNIO, METANO E GÁS CARBÔNICO POR CG/DCT

Maria A. T. Adorno (PQ)*, Inês N. Tomita (PQ)

Escola de Engenharia de São Carlos/USP, Engenharia Ambiental - Laboratório de Processos Biológicos

Av. João Dagnone, 1100, São Carlos/SP - CEP 13563-120

**janja@sc.usp.br*

Algumas vantagens da digestão anaeróbia de matéria orgânica, amplamente utilizada em tratamentos de águas residuárias, são: baixo consumo de energia e pequena produção de lodo. Há geração de biogás, que é composto principalmente por metano e gás carbônico, ocasionalmente produz gás sulfídrico, nitrogênio e hidrogênio. Nesses processos de digestão anaeróbia há a geração de biogás, que é composto principalmente por metano (CH₄) e gás carbônico (CO₂), além de ocasionalmente produzir gás sulfídrico (H₂S), nitrogênio (N₂) e hidrogênio (H₂). A composição do biogás gerado depende da concentração e do tipo de matéria orgânica a ser digerida, além das condições físico-químicas do processo considerado. Além disso, o hidrogênio gerado em tratamentos de águas residuárias por processos biológicos pode ser usado como uma fonte alternativa de energia renovável. Dessa forma, é muito importante a determinação da composição e a quantificação dos compostos presentes no biogás, que é realizada, geralmente, por cromatografia gasosa (CG) com detector de condutividade térmica (DCT) ou espectrometria de massas (EM). Neste trabalho desenvolveu-se um método para a determinação de nitrogênio, hidrogênio, metano e gás carbônico por CG/DCT (Shimadzu GC2010), com coluna Carboxen 1010 PLOT – Supelco e injeção manual. Os parâmetros de validação avaliados foram: linearidade (lin.), precisão do método (coeficiente de variação das áreas obtidas para as curvas de calibração - C.V.% met.), precisão instrumental (C.V.% instr. de 10 injeções de 400 uL do padrão) e limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ). As curvas de calibração foram construídas a partir da injeção de diferentes volumes de uma composição padrão dos gases. Os volumes foram transformados em micromols (μmols), a partir da temperatura e da pressão ambiente (PV = nRT). Na Tabela 1 estão indicados os intervalos dos valores obtidos para os parâmetros de validação avaliados.

Tabela 1. Valores para os parâmetros de validação.

Gás	Lin. (R ²)	C.V.% (met.)	C.V.% (instr.)	LD (μmols)	LQ (μmols)
N ₂	0,97	5,32	2,80	0,265	0,804
H ₂	0,97	5,13	1,91	0,227	0,688
CH ₄	0,97	5,23	2,29	0,204	0,619
CO ₂	0,97	5,14	2,80	0,204	0,619

Os parâmetros de validação atestam que este método é eficiente e adequado para o monitoramento da quantificação de biogás nos processos anaeróbios para reatores em batelada e contínuos, utilizando injeção manual.

Agradecimentos: FAPESP, CAPES e CNPq.



IDENTIFICAÇÃO DE SUBPRODUTOS DE DEGRADAÇÃO DA ATRAZINA SUBMETIDA A PROCESSOS DE OXIDAÇÃO AVANÇADA

Bianca do Amaral, Caio Cardinali Rebouças, Noemi Nagata,
Patricio G. Peralta-Zamora

Departamento de Química, Universidade Federal do Paraná - Curitiba-PR
biancadoamaral_@hotmail.com

A atrazina (ATZ, 1-cloro-3-etilamina-5-isopropilamina-2,4,6-triazina) têm sido amplamente empregada no controle de pragas em culturas de milho, sorgo e cana-de-açúcar. Trata de um herbicida de uso intensivo, comumente associado a processos de contaminação do solo e da água. Por este motivo, vários sistemas de tratamento tem sido propostos para a remediação de matrizes contaminadas com este tipo de herbicida, com destaque para os processos de oxidação avançada (POAs), particularmente sistemas Fenton, que permitem a degradação de inúmeros poluentes orgânicos resistentes, em tempo relativamente curtos. Assim, o principal objetivo deste trabalho foi desenvolver um protocolo para a determinação de atrazina e os principais produtos de degradação (DIA e DEA) durante o tratamento por processos Fenton, utilizando-se extração em fase sólida e cromatografia em fase gasosa acoplada a espectrometria de massas. Inicialmente, o método cromatográfico foi estabelecido, permitindo uma excelente resolução das espécies em estudo, uma adequada identificação pela análise de seus espectros de massa e limites de quantificação entre 0,1 e 0,2 µg/L. O processo de extração foi realizado em cartuchos contendo sílica C18 (Varian 500 mg, 5 mL), utilizando-se 10 mL de amostra, contendo ATZ, DIA e DEA em concentrações de 5,0 mg/L. Os resultados obtidos em análises em triplicata indicaram recuperações de 108 ± 1 % para ATZ, 110 ± 12 % para DEA e 115 ± 4 % para DIA. Após a otimização do sistema SPE-GC-MS, foram analisadas amostras coletadas ao longo do tratamento de 10 mg/L de atrazina pelos sistemas Fenton, foto-Fenton e like-Fenton. Os resultados do processo Fenton mostraram que é possível remover 70 % de ATZ em 15 min e mais do que 95 % em 60 min de tratamento. A partir do primeiro minuto de tratamento detectou-se DIA e DEA sendo que o subproduto DEA foi encontrado em maiores concentrações e persistiu durante todo o processo, enquanto que o DIA, em menor concentração, foi parcialmente degradado ao longo dos 90 minutos de tratamento. No processo foto-Fenton praticamente 70% da atrazina é degradada no primeiro minuto de tratamento, com formação de DIA e DEA que são degradados completamente a partir de tempos de reação de 5 min. Resultados bastante similares foram observados nos estudos de degradação de atrazina por processos foto-like-Fenton. Isto é, completa degradação de ATZ e intermediários em tempos de reação de 3 min. Com base nesses estudos, um mecanismo de degradação da ATZ foi proposto sugerindo a ocorrência de uma sucessão de reações promovidas pelo ataque de radicais hidroxila, com destaque para reações de dealquilação, descloração-hidroxilação, deaminação, olefinação e oxidação da cadeia alquílica lateral, tanto da atrazina como dos subprodutos formados, permitindo, portanto, o acompanhamento da evolução do processo degradativo da ATZ.

Agradecimentos: Os autores agradecem ao apoio do CNPq, da CAPES, da Fundação Araucária e da UFPR.

DETERMINAÇÃO CROMATOGRÁFICA DOS SUBPRODUTOS DA DEGRADAÇÃO DE FENOL POR PROCESSOS FENTON

Bianca do Amaral, Sandra Stets, Graziela da Silva Costa,
Noemi Nagata, Patricio Peralta-Zamora

*Departamento de Química, Universidade Federal do Paraná - Curitiba-PR
biancodoamaral_@hotmail.com*

Compostos fenólicos são considerados poluentes orgânicos persistentes de relevância, principalmente em função de serem resistentes à decomposição bacteriana, cancerígenos e de apresentarem características de bioacumulação. A sua presença em compartimentos ambientais tem origem principalmente nos despejos de resíduos industriais, tais como refinarias, gaseificadores de coque e plantas petroquímicas. O objetivo deste trabalho foi desenvolver um método cromatográfico para o monitoramento de fenol (FN) e dos principais subprodutos (hidroquinona-HQ; p-benzoquinona-BQ, pirocatecol-PC e resorcinol-RS) observados durante a degradação por processos Fenton e foto-Fenton. As medidas foram realizadas em cromatógrafo em fase líquida de alta eficiência (Varian 920 LC), equipado com detector DAD (Diode Array Detector), injetor automático e coluna C18 (Microsorb-MV100-5, 250 x 4,6 mm, 5 μ m). As condições de eluição da fase móvel constituída de uma mistura de água ultrapura (solvente A) e acetoneitrila (solvente B) seguiram o programa: 0-14 min, 15% B (isocrático); 14-23 min, 15-100% B (gradiente linear) condição que foi mantida por 2 min e 25-36 min, 15% B (isocrático), utilizando-se vazão de 0,60 mL/min e volume de injeção de 50 μ L. Os comprimentos de onda monitorados foram 212 nm para FN, HQ, PC e RS e de 247 nm para BQ. Curvas analíticas (n=3) foram desenvolvidas na faixa de concentração de 0,0050 a 5,0 mg/L. Os compostos avaliados apresentaram boa detectabilidade (FN=0,005 mg/L, HQ=0,05 mg/L e BQ=RS=0,01 mg/L), exceto para o PC o qual apresentou sinal analítico não mensurável nessa faixa de concentração. Coeficientes de correlação adequados foram obtidos ($R > 0,99$) e os coeficientes angulares das curvas analíticas obtidas mostraram uma maior sensibilidade na determinação de BQ seguido de RS, FN e HQ. Os limites de quantificação (LQ) calculados foram: 0,0075 mg/L, 0,025 mg/L, 0,025 mg/L e 0,075 mg/L para FN, RS, BQ e HQ, respectivamente. Ressalta-se que os parâmetros de mérito foram avaliados de acordo com procedimentos recomendados pela ANVISA. Os processos Fenton foram preliminarmente aplicados em escala de bancada, utilizando-se reator de 250 mL equipado com agitação magnética e sistema de refrigeração por água. Nos processos foto-Fenton, a radiação foi proporcionada por uma lâmpada a vapor de mercúrio de 125 W. Em ambos, em o fenol (10 mg/L) foi aplicado como substrato modelo. O monitoramento cromatográfico permitiu verificar uma rápida degradação do fenol, o que propiciou a sua remoção praticamente completa em tempo de 3 min para ambos os tratamentos. Nas condições em que este estudo foi realizado não foi observada a formação das espécies transientes que caracterizam a degradação de fenol (ex. catecol, hidroquinona, p-benzoquinona, entre outros), provavelmente em função da baixa concentração de fenol.

Agradecimentos: Os autores agradecem ao apoio do CNPq, da CAPES, da Fundação Araucária e da UFPR.



AUTOMATED SPE FOR THE DETERMINATION OF CONTAMINANTS IN WATER ACCORDING TO REGULATORY REQUIREMENTS

Toni R. Hofhine¹, Noah Iskandarani¹, Ricardo Fecho²

¹*Gilson Inc., USA*, ²*Nova Analítica, SP, Brazil*

ricardo.fecho@novanalitica.com.br

Contamination of clean water sources causes impact on the agricultural industry and natural resources; ultimately affecting both humans and animals. With a constant concern because of this, the US Environmental Protection Agency (EPA) has implemented pollution control programs and water quality standards like the EPA Methods 1694 and 525.3 to test for pharmaceuticals and personal care products, and semivolatile organic chemicals in water, respectively. The determination of the pollutant concentrations in water by these methods is based on a solid phase extraction (SPE) of the target analytes and a subsequent separation and identification by chromatography-mass spectrometry. SPE has become a technique of choice for sample clean-up, fractionation and trace-enrichment, but most manual SPE methods do not really optimize the extraction mechanism due to a rather simplified approach to method development. The automation and optimization of SPE provides more efficient and reproducible sample preparation, improves day-to-day precision and increases sample throughput compared to using manual fractionation. In addition, the automated SPE can be configured with on-line injection onto the chromatographic system. This work presents automated SPE methods optimized for the extraction of micro pollutants in water, like hormones in surface water, herbicides, pesticides, and pharmaceuticals & personal care products in drinking water. The recovery values obtained for automated SPE samples were within the expected by the EPA Methods. The automation of the SPE process increased sample throughput, reduced the solvent usage and reduced the potential errors that may occur in during manual processing of samples. This study included researching any carryover from the target analytes. Mean sample values showed either no peaks detected or less than detectable reporting limits for all target analytes.

ALTERNATIVE LOW COST GC METHOD TO DETERMINATION OF POLYOL HUMECTANTS IN TOBACCO PRODUCTS

Simone C. Chiapetta¹, Cinthia da Conceição Garcia¹,
 Felipe J. A. Batista¹, Elba S. Oliveira¹, Ademário I. da Silva²

¹INT, Av. Venezuela, 82, Saúde, Rio de Janeiro, RJ - Brazil, 20081312

²IFRJ, R. Senador Furtado, 121, Maracanã - Rio de Janeiro, RJ - Brasil 20270021

simone.chiapetta@int.gov.br

The tobacco industry adds several ingredients to cigarettes. Humectants are used due to its hygroscopic properties and to prevent tobacco from rapidly drying during manufacture. The typically humectants used in the tobacco industry are glycerol in combination with 1,2-propylene glycol and triethylene glycol. When heated above 260 °C, glycerol decomposes to acrolein and acetaldehyde which are very toxic substances (GAWORSKI, 2010). Reference methodology for tobacco control are proposed by World Health Organization (WHO) in agreement to the Cooperation Centre for Scientific Research Relative to Tobacco - CORESTA, an association whose aim is promotes international cooperation for scientific research related to tobacco. As part of the world effort of reduces tobacco consumption and cancer risk associated to it, the Brazilian Ministry of Health banned or limited use of ingredients in tobacco products, in agreement to Framework Convention on Tobacco Control (WHO-FCTC). Most of the methodology developed by CORESTA are adopted, or are used to support the International Organization for Standardization - ISO, and so are recognized to support Public Policy. The objective of the Laboratory of Tobacco of the National Institute of Technology is implement and validate the standard protocols to support national health directives in tobacco control. In this work we present the validation of the determination of humectants in cigarettes and propose an alternative chromatographic condition using hydrogen as carrier gas. The method consists of the extraction of the humectants from 2g cigarette with 25mL methanol containing 1,3-butanediol as internal standard. The WHO chromatographic condition uses a DB-WAX: 30 m x 0,32 mm x 25,0 µm, He as carrier gas. The proposed methodology used a DB-WAX: 15 m x 0,32 mm x 25,0 µm, and was tested with both He and H₂ as carrier gas. The proposed CG conditions is faster, higher resolution for the critical separation compounds glycerol and triethyleneglycol, lower detection limit than the standard WHO method and meets the requirement of replacing helium in the routine analysis. A control sample was analysed and the presented the amount, in method with H₂ as carrier gas, of 0,069 ± 0,015 mg.g⁻¹ for propylene glycol, 1,060 ± 0,044 mg.g⁻¹ for glycerol, and 0,106 ± 0,026 mg.g⁻¹ for triethylene glycol, that is in agreement with the reported value.

Referências

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). RDC N° 14, de 15 de Março de 2012. Diário Oficial da União de 16 de Março de 2012. Brasília.

GAWORSKI C.L.; OLDHAM M. J.; COGGINS C. R. E.. Toxicological considerations on the use of propylene glycol as a humectant in cigarettes. Toxicology, no 269, 2010, 54-66.

<http://www.coresta.org>

Acknowledgment: CNPq, CIEE, ANVISA.



POTENCIAL DE CONTAMINAÇÃO DE CORPOS HÍDRICOS POR ANTIBIÓTICOS UTILIZADOS NA PRODUÇÃO AVÍCOLA

Figueiredo, L.A; Monteiro, S.H.; Francisco, J.G.; Silva, D.H.;
Moura Andrade, G.C.R.; Pimpinato, R.F.; Tornisielo, V.L.

Laboratório de Ecotoxicologia, CENA/USP, Piracicaba/SP
Instituto Biológico, São Paulo/SP
Coordenadoria de Assistência Técnica Integral/SAA, Piracicaba/SP
leilaf.82@gmail.com

O Brasil é um dos maiores produtores e exportadores de carne aviária do mundo, com produção anual de mais de 6 milhões de toneladas em 2013. No entanto, toda esta produção requer uso de medicamentos veterinários, como os antimicrobianos, em larga escala. Sabe-se que muitos antibióticos passam pelo sistema gastrointestinal dos animais e quantidades significativas dessas moléculas são eliminadas no ambiente em sua forma inalterada, podendo levar a contaminações ambientais quando o descarte ou uso de resíduos animais é mal conduzido. Os antimicrobianos mais utilizados na criação de frango de corte no Brasil pertencem à classe das fluoroquinolonas (FQs). Acredita-se que as FQs aplicadas em frangos de corte possam atingir corpos hídricos próximos dos criadouros. Essa contaminação pode ocorrer de forma direta por escoamento superficial durante a lavagem dos galpões de produção ou de forma indireta, como o reaproveitamento da cama de aviário, contendo quantidades elevadas de FQs, como adubo orgânico na agricultura. Com isso, o objetivo deste estudo foi avaliar a presença de três moléculas da classe das FQs em corpos hídricos adjacentes às granjas: enrofloxacin (ENR), ciprofloxacina (CIP) e norfloxacina (NOR). As coletas foram realizadas em triplicata em corpos d'água próximos aos barracões de produção de frango de corte no município de Piracicaba (SP/Brasil) e levadas para o Laboratório de Ecotoxicologia (CENA/USP), onde foram analisadas no mesmo dia. Foi realizado o pré-tratamento e análise das 27 amostras pelo método desenvolvido em on-line SPE-LC-MS/MS (extração em fase sólida acoplado à cromatografia líquida e à espectrometria de massas em tandem). As condições cromatográficas na coluna preparatória foram: coluna para carregamento e pré concentração da amostra Zorbax 80 SB-C8 (9,4x15 mm; 7µm); volume de amostra: 900 µL; Fase móvel: A - água ultrapura e ácido ortofosfórico (até atingir pH 4,0) e B - MeOH; fluxo: 1,0 mL/min; uso de gradiente; forno: 30°C. As condições cromatográficas para separação dos analitos foram: coluna Zorbax Eclipse Plus C18 (3x100 mm; 3,5µm); Fase móvel: A - água ultrapura com 0,1% de ácido fórmico e B - ACN com 0,1% de ácido fórmico; fluxo: 0,4 mL/min; uso de gradiente. O tempo de corrida foi de 15 min mais pós-time de 7 min. Todas as amostras apresentaram valores abaixo do limite de detecção (LD). Nas visitas às granjas comprovou-se que ocorre escoamento superficial da água dos galpões para os lagos próximos, mesmo assim a presença de FQs dispersas na água não puderam ser comprovadas. Acredita-se que essas moléculas ficam fortemente adsorvidas às cargas presentes no material de sedimento dos lagos e não ficam dispersas em água como se esperava. Com estes resultados, conclui-se que as FQs não ficam em suspensão e destaca-se a necessidade de se analisar o sedimento para estudar o comportamento dessas moléculas em ecossistema aquático.

Agradecimentos: FAPESP.

COMPORTAMENTO DE FLUOROQUINOLONAS EM CORPOS D'ÁGUA EM ÁREA RURAL

Figueiredo, L.A.; Monteiro, S.H.; Francisco, J.G.; Silva, D.H.;
Moura Andrade, G.C.R.; Pimpinato, R.F.; Tornisielo, V.L.

Laboratório de Ecotoxicologia, CENA/USP, Piracicaba/SP

Instituto Biológico, São Paulo/SP

Coordenadoria de Assistência Técnica Integral/SAA, Piracicaba/SP

leilaf.82@gmail.com

Nos últimos anos o número de fármacos detectados no ambiente tem aumentado significativamente. Vários estudos já relatam a contaminação em corpos hídricos ao redor do mundo. A maioria dos corpos d'água se localizam em ambiente rural, cujo uso varia desde a simples dessedentação de animais até a sua utilização como manancial de abastecimento urbano, mas ainda não há a devida preocupação sobre o potencial de contaminação por estes agentes antibióticos usados na produção pecuária. Além disso, é essa própria água que abastece o produtor, a vizinhança e os animais. Na região de Piracicaba (SP/Brasil) a produção de frango de corte é intensa e o uso de antibióticos do grupo das fluoroquinolonas (FQs) é constante, principalmente a enrofloxacin (ENR), ciprofloxacina (CIP) e a norfloxacina (NOR). Com isso, o objetivo deste estudo foi avaliar a presença dessas três moléculas (ENR, CIP e NOR) no sedimento dos corpos hídricos adjacentes às granjas. As coletas, em triplicata, de sedimento foram realizadas em corpos d'água próximos aos barracões de produção de frango de corte no município de Piracicaba e, em seguida, foram levadas para o Laboratório de Ecotoxicologia (CENA/USP), onde foram liofilizadas, peneiradas e analisadas por método desenvolvido em on-line SPE-LC-MS/MS (extração em fase sólida acoplado à cromatografia líquida e à espectrometria de massas em tandem). As amostras passaram por um processo de extração (adaptado de Zhou et al., 2011 por Monteiro, 2014) para posterior análise cromatográfica. Condições cromatográficas na coluna preparatória: coluna para carregamento e pré concentração da amostra Zorbax 80 SB-C8 (9,4x15 mm; 7µm); volume de amostra: 900 µL; Fase móvel: A- água ultrapura e ácido ortofosfórico (pH 4) e B- MeOH; fluxo: 1,0 mL/min; uso de gradiente; forno: 30°C. Condições cromatográficas para separação dos analitos: coluna Zorbax Eclipse Plus C18 (3x100 mm; 3,5µm); Fase móvel: A- água ultrapura com 0,1% de ácido fórmico e B- ACN com 0,1% de ácido fórmico; fluxo: 0,4 mL/min; uso de gradiente. Tempo de corrida: 15 min mais 7 min de pós-time. Foram encontrados traços de ENR, CIP e NOR nas amostras de sedimento analisadas. Conc. de ENR: 76,5 ng/L (±3,5), 60,1 ng/L (±1,1) e 70,9 ng/L (±4,6), amostras 1, 2 e 3, respectivamente. Conc. de CIP: amostra 1: 9,7 ng/L (±1,4). Conc. de NOR: 2,0 ng/L (±0,4) e 22,6 ng/L (±2,2), amostras 1 e 3, respectivamente. Nas visitas às granjas comprovou-se que ocorre escoamento superficial da água dos galpões para os lagos próximos. Os resultados confirmaram que as essas moléculas ficaram fortemente adsorvidas às cargas presentes no sedimento e não em suspensão conforme estudos anteriores. Com estes resultados, conclui-se que esses 3 fármacos apresentam um comportamento em comum: ficam adsorvidos no sedimento dos corpos hídricos e, portanto, podem estar causando contaminação dos organismos aquáticos que se alimentam de sedimentos orgânicos.

Agradecimentos: FAPESP.



ANÁLISE DE AÇÚCARES LIVRES OBTIDOS PELO TRATAMENTO DO BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR COM ÁCIDO POR LC/MS/M

Alessandra V. da Silva, Matheus de O. Souza, Rafael Garrett,
Márcio Nele, Leandro S. M. Miranda, Marcelo M. Pereira

*Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro,
Av. Athos da Silveira Ramos 149, Centro de Tecnologia, Bloco A, 21941-909, Rio de Janeiro
alessandra.quimica@gmail.com*

O processamento da cana-de-açúcar para a produção de açúcar ou etanol produz uma grande quantidade de biomassa de segunda geração. Sua composição, rica em celulose, hemicelulose e lignina, coloca este resíduo em uma posição de destaque para a produção de biocombustíveis, já que as unidades de compostos de carbono presentes na celulose e hemicelulose podem ser transformadas e empregadas em uma segunda produção de etanol ou também funcionalizadas e empregadas na produção de combustíveis. O objetivo deste trabalho foi realizar a abertura da biomassa de segunda geração empregando HCl em diferentes concentrações e avaliar os teores de açúcares livres (glicose, frutose, xilose e sacarose) gerados nos extratos (hidrolisados) por LC/MS/MS. Para a obtenção dos extratos, 1g de biomassa foi submetido à hidrólise sob refluxo (100°C, 60 min.), usando água (branco) e diferentes concentrações de HCl: 1; 0,5; 0,1; 0,01 e 0,001 M. A seguir, as soluções foram neutralizadas com resina catiônica e liofilizadas. Os açúcares livres foram analisados por LC/MS/MS usando uma coluna Zorbax-NH₂ (150 x 4,6 mm, 5 µm) à 40°C em modo isocrático (ACN:H₂O 85:15, v/v; 1,5 mL/min, Split 1/5) e detecção, no modo MRM, por ESI(-)-MS/MS (API 2000 triplo-quadrupolo). Os íons precursores/produtos monitorados foram: 149/89 (xilose), 179/89 (glicose e frutose), 340/59 (sacarose) e 163/59 (rhamnose; padrão interno). A quantificação dos açúcares livres foi realizada na faixa de 0,5-5,0 µg/mL. A quantidade de biomassa convertida na obtenção dos hidrolisados variou de 28,4% (água) à 51,6% (HCl 1 M), com CV < 6% (n=3), sendo que o bagaço foi constituído de 70,4% de fibras insolúveis (7,8% de lignina, 33% de celulose e 30,4% de hemicelulose). A abertura da biomassa com tratamento ácido converte a celulose, que contém sacarose, em glicose e frutose, enquanto que a hemicelulose é convertida, principalmente, em aldopentoses, como xilose e arabinose. Usando somente a água (branco) foram obtidos 27% de glicose, 38% de frutose e 17% de sacarose. A concentração de HCl 0,001M não foi suficiente para promover a hidrólise completa da sacarose, que foi observada somente a partir da concentração de 0,01 M, na qual a sacarose não foi mais detectada e houve um aumento no teor de glicose e frutose. Quanto mais concentrado o ácido, maior foi a quantidade de hidrolisado obtido, porém, na concentração de 1 M, observou-se uma diminuição no teor dos açúcares livres. Na concentração de 0,5 M, pôde-se observar a abertura da hemicelulose devido à presença da xilose (37%). Determinar a quantidade de açúcar livre nos hidrolisados é de extrema importância para otimizar os processos de abertura da biomassa e, conseqüentemente, a futura obtenção dos biocombustíveis. A técnica de LC/MS/MS e o uso da coluna amino permitiu uma análise direta e a quantificação dos açúcares livres nos hidrolisados sem a necessidade de modificação em suas estruturas.

Agradecimentos: À Escola de Química da UFRJ e à Petrobras pelo financiamento do projeto.

QUANTIFICAÇÃO DE ACETAIS DE MONOSSACARÍDEOS POR LC/MS/MS

Matheus de O. Souza, Thalita G. Barros, Rafael Garrett,
Leandro S. M. Miranda, Marcelo M. Pereira

*Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro,
Av. Athos da Silveira Ramos 149, Centro de Tecnologia, Bloco A, 21941-909, Rio de Janeiro
matheus.iq.ufrj@gmail.com*

O poder de separação da cromatografia líquida (LC) juntamente com a alta sensibilidade e seletividade da espectrometria de massas (MS) tornaram a técnica de LC/MS em uma ferramenta poderosa na identificação e quantificação de diferentes analitos em matrizes complexas. Os produtos de extração e/ou reação obtidos a partir do bagaço da cana-de-açúcar vêm sendo considerados como um potencial insumo para a obtenção de biocombustíveis. Recentemente, foi demonstrada por nosso grupo a possibilidade de se produzir compostos da gasolina a partir de acetais de monossacarídeos presentes em hidrolisados do bagaço da cana-de-açúcar (Batalha et al. ChemSusChem, 7: 1627–1636, 2014). Diante deste resultado, procurou-se desenvolver um método para quantificar os acetais isopropilidênicos (AI) resultantes da hidrólise/acetilação do bagaço da cana-de-açúcar por LC/MS/MS. Para obter os AI foram utilizados 250mg de bagaço de cana-de-açúcar, 5mL de acetona e 0,02mL ácido sulfúrico em reator selado à 90°C sob agitação por 2h. A extração e acetilação dos monossacarídeos ocorreu sequencialmente no meio reacional. Os experimentos de LC/MS/MS foram realizadas em um cromatógrafo líquido 1200 Series (Agilent Technologies) acoplado a um espectrômetro de massas do tipo triplo quadrupolo (API 2000 AB Sciex) com fonte de ionização por eletrospray operando no modo positivo. A separação dos AI foi realizada em uma coluna Zorbax SB-C18 (2,1 x 150 mm, 3.5 µm) a 37°C em modo isocrático de eluição (formiato de amônio 10mM:ACN:MeOH, 60:20:20 v/v; 270 µL/min; 10 µL de injeção) e detecção por experimento de “Scheduled MRM”, no qual os analitos são monitorados somente em seus tempos de retenção. Os íons [M+NH₄]⁺ precursores/produtos monitorados foram: 208/150 (xilose mono-acetal; XMA), 238/163 (glicose mono-acetal; GMA), 248/231(xilose di-acetal; XDA), 278/261 (glicose di-acetal; GDA) e 279/262 (13C-glicose di-acetal; padrão interno). A quantificação foi realizada nas faixas de 0,5-15,0 µg/mL (mono-acetais) e 1,0-20,0 µg/mL (di-acetais). As curvas analíticas apresentaram uma boa linearidade, com valores de R² > 0,999 para GMA, GDA e XDA, e valor > 0,998 para XMA. O teor total de AI obtido variou de 38-41% (n=3), sendo que a GMA (glicose+frutose) apresentou concentrações abaixo do limite de quantificação do método. A média de teores para os AI individuais foram: XMA (0,6%), XDA (7,6%) e GDA (31%; glicose + frutose). A presença dos acetais da xilose no óleo revela a abertura da hemicelulose, enquanto que o alto teor do acetal da glicose (glicose+frutose) pode ser, principalmente, devido à abertura da celulose e/ou a hidólise da sacarose livre presente no bagaço. Os resultados obtidos até o momento ajudam a compreender melhor a composição química dos extratos de AI, que terá impacto direto na sua futura conversão em compostos da gasolina através de reações de pirólise.

Agradecimentos: A Petrobás pelo financiamento do projeto.



ADEQUAÇÃO DE ÁGUAS DE POÇOS SUBTERRÂNEOS POR CROMATOGRAFIA DE TROCA-IÔNICA

Laedja M. Barbosa¹; Ausberta Jesus C. Garcia²; Denise D. da Silva¹

¹Lab. de Bioc. e Quím. Amb./CES - Universidade Federal de Campina Grande, Brasil

²Universidade Federal de Aracaju

*e-mail: dedomingos@ufcg.edu.br

A água é um recurso essencial para os seres vivos mais a região do Curimataú paraibano localizada no Nordeste do Brasil (Cuité-PB) sofre com a escassez desse recurso hídrico justificado pela presença constante de secas e irregularidade das chuvas. Uma das alternativas da população dessa região para amenizar a problemática da escassez é recorrer à utilização de poços subterrâneos. A água subterrânea, além de ser um bem econômico, é considerada mundialmente uma fonte imprescindível de abastecimento para consumo humano. Contudo, mesmo com o fácil acesso à água subterrânea a mesma pode não estar adequada para o consumo. O objetivo do trabalho foi identificar e adequar as propriedades físico-químicas da água de poços subterrâneos da zona urbana do município de Cuité/PB. A metodologia envolveu desde o processo de amostragem (para poços com profundidade >20m) até a análise de parâmetros físico-químicos; turbidez, cloreto, dureza, alcalinidade, condutividade e aplicação da metodologia de Cromatografia de troca-iônica (resina mista) para readequar características da água. Após a preparação da coluna com a resina de troca-iônica e dos cartuchos SPE adaptados às amostras foram analisadas em triplicata. Os resultados obtidos foram reportados à análise estatística para posterior comparação com os parâmetros definidos pela portaria Nº 2.914/2011 do Ministério da Saúde referente à qualidade da água adequada para o consumo humano. A partir dos resultados constatou-se que o pH das referidas águas subterrâneas estavam ácidos. Desta forma utilizou-se a técnica cromatográfica de troca-iônica para adequar o pH. Soluções básicas de NaOH foram utilizadas com concentrações iguais a 1,0; 0,8 e 0,5 mol.L⁻¹ para adequar a coluna de adsorção para as águas subterrâneas. Foi evidenciado que a técnica se apresentou satisfatória (pH~7,0) na adequação do parâmetro físico-químico apresentando-se como uma nova metodologia para a rede de tratamento de águas do referido município, tendo em vista a necessidade e utilização crescente dos poços subterrâneos como medidas alternativas para o acesso à água.

Agradecimentos: CNPq - PROPEX/UFCG.

DETERMINAÇÃO DE HORMÔNIOS EM ÁGUAS SUPERFICIAIS E DE ABASTECIMENTO ATRAVÉS DE EFS-CLAE-EM

Andre Felipe de Oliveira, Maria A. Carvalho de Medeiros

Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP – Faculdade de Tecnologia

Rua Paschoal Marmo, 1888, Limeira-SP

SANASA - Rua Abolição, 2375 Bairro Swift, Campinas-SP

mariaacm@ft.unicamp.br, laboratorio@sanasa.com.br

Há uma preocupação crescente na área de Saneamento Ambiental com relação à escassez e qualidade das águas dos corpos hídricos, tendo em vista que pesquisas têm revelado os riscos de contaminação por sistemas de tratamento convencional de esgotos e de efluentes nos corpos d'água, devido à eficiência deste processo não ser adequada para a remoção de compostos classificados como Disruptores Endócrinos (DE)^[1]. Nesta classe de compostos são destacados os estrógenos naturais 17 β -estradiol (E2), estriol (E3), estrona (E1) e o sintético 17 α -etinilestradiol (EE2). Os efeitos destes hormônios sexuais, que são compostos extremamente ativos biologicamente, têm sido citados como agentes etiológicos de feminilização em peixes e de vários tipos de cânceres^[2]. Apesar de as Legislações relacionadas aos parâmetros de lançamento (RESOLUÇÃO CONAMA no. 430 de 2011) e de parâmetros de potabilidade (Portaria no. 2914 de 2011) não contemplarem estes compostos DE, diversos trabalhos têm sido publicados com quantificação destes compostos da ordem de ng/L. Neste contexto, o objetivo desta pesquisa foi o desenvolvimento de uma metodologia analítica abrangente para identificar e quantificar a presença dos hormônios E1, E2, E3 e EE2, nas tratada e bruta do rio Atibaia, manancial que abastece o município de Campinas, utilizando a técnica de extração em fase sólida (EFS), juntamente com a técnica de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada à espectrometria de massa (CLAE/EM). Varias condições de extrações foram testadas, isto é, diferentes solventes e cartuchos, bem como condições de secagem, taxa de fluxo da amostra e da eluição. Foi utilizado um cromatografo liquido Waters Alliance 2695, acoplado a um dectetor MS quádruplo MIcromass ZQ4000, equipado com uma coluna Waters Xterra C18. As curvas analíticas dos hormônios apresentaram boa correlação linear e bons coeficientes de determinação ($R^2 > 0,99$). O espectrômetro de massa operou com o eletrospray no modo negativo. As condições de operação do espectrometro de massa foram as seguintes: tensão capilar, 3.69 kV, temperatura da fonte, 150°C, temperatura de dessolvatação, 280°C, a vazão do gás de dessolvatação, 600 L/h. Mais estudos e aprofundamentos experimentais são necessários para avaliar a ocorrência e a capacidade de remoção desses compostos pelo tratamento de água convencional. Esta metodologia está sendo aplicada em estudos com aplicação de ozonização para a degradação destes compostos DE e em monitoramento da qualidade de água bruta e água tratada do rio Atibaia.

Referências:

[1] E. Vulliet, C. Cren-Olivé, Environmental Pollution 159 (2011) 2929-2934.

[2] C. Aftafa, F. O. Pelit, E. E. Yalçynkaya, H. Turkmena, I. Kapdanb, F. Nil Ertas, Journal of Chromatography A, 2014, in press.

Agradecimentos - Ao CNPq, FAPESP, UNICAMP e a Empresa SANASA - Campinas.



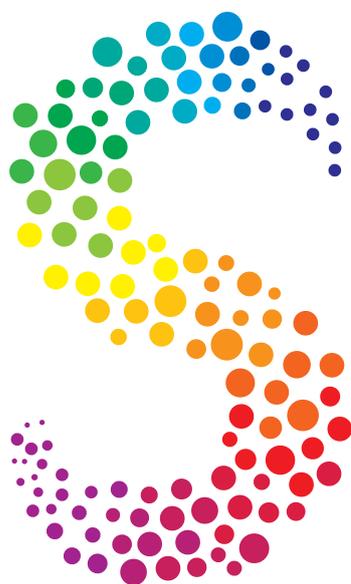
MONITORAMENTO AMBIENTAL ATRAVÉS DA AVALIAÇÃO DE HIDROCARBONETOS TOTAIS DO PETRÓLEO

Vinícius Praia Carvalho (PG), Allan S. Polidoro (PG),
Elina B. Caramão (PQ), Rosângela A. Jacques (PQ)

*Laboratório de Química Analítica Ambiental e Oleoquímica
Instituto de Química – Universidade Federal do Rio Grande do Sul – Brasil
vpriac@yahoo.com.br
rosangela.j@globo.com*

A poluição causada pelo petróleo é tóxica para os animais marinhos e para as aves migratórias, além de prejudicar indiretamente a população que vive no litoral das áreas atingidas. Essa contaminação pode ser avaliada pelo HTP (hidrocarbonetos totais do petróleo), que é o somatório de n-alcenos e MCNR (material de carbono não resolvido). Uma das técnicas utilizadas para análise de presença de HTP no ambiente é a cromatografia gasosa com detector FID (detector de ionização por chama). No entanto, a análise de HTP para avaliação ambiental é de alta complexidade, devido à presença de sinais cromatográficos que tem origem petrogênica, como, também, biogênica. Para melhor elucidação desse problema são usadas algumas relações que podem ser obtidas do cromatograma, como: índice de preferência de carbono (CPI), razão de pristano e fitano, razão entre n-alcenos C17 e pristano, entre outras. No presente trabalho, foi realizada uma caracterização do HTP em amostras de sedimento coletadas numa região ao sul de Florianópolis, através das ferramentas citadas. O monitoramento foi realizado mensalmente em 19 pontos distintos no período de Julho/2013 à Janeiro/2014, totalizando em 133 amostras de sedimento. Amostras foram preparadas pelo método EPA 3550C, em que 30 g do sedimento foi extraído com 300 mL de acetona:hexano (1:1), concentrado a 1 mL e eluído numa coluna de sílica, para posterior análise no GC-FID. A coluna utilizada foi uma ZB-1 (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm) com a rampa de aquecimento iniciando em 35 °C (5 min) com taxa de aquecimento de 10 °C/min até 325 °C, permanecendo nesta temperatura por 15 min. Os resultados obtidos de HTP variaram de não detectado até 1600 mg/kg; o CPI, nas amostras que foi detectado HTP, variou de 0,34 a 118,40. Valores acima de 2 indicam contribuição biogênica nos valores de HTP, abaixo, petrogênica. Em 107 análises realizadas durante o monitoramento foram determinados valores superiores à razão 2, indicando origem biogênica.

Agradecimentos: CAPES, CNPq e NSF Bioensaios.



SEÇÃO K



FASES ESTACIONÁRIAS MONOLÍTICAS PARA SEPARAÇÕES NO MODO HILIC USANDO CROMATOGRAFIA LÍQUIDA CAPILAR

Mariana R. Gama^{1*}, Milton L. Lee², Carla B. G. Bottoli¹

¹*Instituto de Química, Unicamp, Campinas-SP*

²*Dept. of Chemistry and Biochemistry, Brigham Young University, Provo-UT, USA*

**marianaroberto@gmail.com*

A Cromatografia Líquida Capilar (CLC) desponta como técnica de separação de grande potencial por apresentar diversas vantagens das separações em microescala, como menores consumo de solventes e geração de resíduos, redução na quantidade de amostra requerida, menor quantidade de fase estacionária utilizada no enchimento de colunas e facilidade no acoplamento com espectrometria de massas. Na CLC, são empregadas colunas de diâmetro interno reduzido, entre 75 e 500 μm , diferente da cromatografia líquida convencional, em que são aplicadas colunas de diâmetro interno entre 2,0 e 4,6 mm. Como o enchimento de colunas capilares para CLC com material particulado é de difícil execução e baixa repetibilidade, o recheio com materiais monolíticos se tornou uma alternativa viável. Monolitos consistem em uma estrutura única porosa, mecanicamente resistente, de fácil preparo in situ e grande variabilidade química, o que permite a separação de analitos de diferentes propriedades químicas. Um monolito pode ser inorgânico, geralmente baseado em sílica, ou orgânico, baseado em polímeros como acrilatos, acrilamidas ou metacrilatos. Neste trabalho, foi proposto o desenvolvimento de fases estacionárias monolíticas poliméricas orgânicas, baseadas em metacrilato hidrofílico, para aplicações em separações por CLC no modo HILIC (do inglês Hydrophilic Interaction Liquid Chromatography). No preparo das fases estacionárias monolíticas, misturas de polimerização foram preparadas com diferentes proporções dos monômeros carboxietil acrilato (CEA) e polietilenoglicol dimetacrilato (PEGDMA), dos solventes porogênicos 1,4-butanodiol e n-propanol, e por 2,2-dimetoxi-2-fenilacetofenona (DMPA) como iniciador radicalar, totalizando 40% (m/m) de monômeros e 60% (m/m) de solventes porogênicos. Cada mistura de polimerização foi inserida em um capilar pré-tratado de 150 μm de diâmetro interno, de sílica fundida e revestimento externo de teflon; o capilar foi exposto a uma lâmpada UV de 1000 W de potência, com emissão em 390 ± 15 nm, durante 5 min, até a completa formação do monolito. Após o preparo, as colunas cromatográficas foram lavadas com metanol, para a remoção de resíduos de preparo, condicionadas com a fase móvel, que consistiu em uma mistura de acetonitrila e água (85:15, v/v), e avaliadas a uma vazão de 0,3 $\mu\text{L}/\text{min}$, com eluição isocrática. Na caracterização cromatográfica, o monolito mostrou excelente seletividade e eficiência cromatográfica na separação de acrilamidas: $R_s = 10$, para o composto mais retido, a hidroxiacrilamida, e seu adjacente, e $N = 76000$ pratos/m para o composto mais retido. Concluiu-se que a fase estacionária monolítica CEA-PEGDMA foi viável na separação de analitos polares de pequeno tamanho, quando utilizada a CLC no modo HILIC.

Agradecimentos: INCT Bioanalítica, CNPq, CAPES, Fapesp.

AUMENTO DA EFICIÊNCIA CROMATOGRÁFICA DE COLUNAS MONOLÍTICAS CAPILARES BASEADAS EM BUTILMETACRILATO

Mariana R. Gama^{1*}, Milton L. Lee², Carla B. G. Bottoli¹

¹Instituto de Química, Unicamp, Campinas-SP

²Dept. of Chemistry and Biochemistry, Brigham Young University, Provo-UT, USA

*marianaroberto@gmail.com

A porosidade de uma rede polimérica monolítica pode ser definida pelos solventes porogênicos usados, em geral, como uma mistura binária ou ternária de reagentes inertes, de baixa ou alta massa molar. Os reagentes propanol e 1,4-butanodiol são comumente utilizados como solventes porogênicos das misturas de polimerização envolvendo metacrilatos, pois são amplamente difundidos na literatura para tal função. Assim, a substituição da mistura binária dos solventes foi proposta a fim de se avaliar se a alteração do propanol e 1,4-butanodiol provocaria alguma melhora ou prejuízo no desempenho cromatográfico das colunas monolíticas baseadas em butil metacrilato (BMA) avaliadas por cromatografia líquida capilar. Para tanto, misturas de polimerização foram preparadas com o monômero precursor BMA (16%, m/m), o agente de entrecruzamento etilenoglicol dimetacrilato (EGDMA, 24% m/m) e 60% (m/m) de solventes porogênicos. 2,2-dimetoxi-2-fenilacetofenona (DMPA) foi utilizado como iniciador radicalar. As misturas de solventes porogênicos testadas foram: (1) isobutanol e 1,4-butanodiol, (2) propanol e dodecanol, (3) metanol e dodecanol, (4) polietileno glicol e metanol, (5) etilenoglicol e metanol, (6) metanol e cicloexanol, (7) metanol e propanol, (8) dodecanol e cicloexanol, na proporção de 24% e 36% (m/m), respectivamente. Cada mistura de polimerização, preparada com uma mistura binária de solventes porogênicos, foi inserida em um capilar pré-tratado de 150 µm de diâmetro interno, de sílica fundida e revestimento externo de teflon; o capilar foi exposto a uma lâmpada UV de 1000 W de potência, com emissão em 390 ± 15 nm, durante 5 min, até a completa formação do monolito. Após o preparo, as colunas cromatográficas foram lavadas com metanol, para a remoção de resíduos, condicionadas com a fase móvel, que consistiu em uma mistura de acetonitrila e água (70:30, v/v), e avaliadas a uma vazão de 300 nL/min, com eluição isocrática de uma mistura de alquilbenzenos (tolueno ao pentilbenzeno). Na melhor condição de preparo, em que a mistura binária (1) foi utilizada, a eficiência cromatográfica foi calculada como 47250 pratos por metro, para o composto mais retido, e a resolução entre picos adjacentes foi calculada como 3,5. Já as misturas binárias (6) e (8) não foram adequadas para o preparo de monolitos baseados em BMA, pois nestes casos, os monolitos formados não puderam ser avaliados cromatograficamente. As outras misturas binárias ofereceram eficiências cromatográficas entre 33000 e 47000 pratos por metro, cujos valores foram maiores que os calculados para a coluna preparada com propanol e 1,4-butanodiol (22000 pratos por metro). Concluiu-se que fases estacionárias monolíticas baseadas em BMA podem ser preparadas com diferentes misturas binárias de solventes porogênicos com significativo aumento no desempenho cromatográfico, quando avaliadas por cromatografia líquida capilar.

Agradecimentos: INCT Bioanalítica, CNPq, CAPES, Fapesp.

FROM 60 μm PARTICLES TO 1 μm PARTICLES: WHAT HAS CHANGED ON THE SCIENCE OF LIQUID CHROMATOGRAPHY?

Amanda Quatrocchio Liporini (PG), Fernando Mauro Lanças (PQ)

Institute of Chemistry of São Carlos, University of São Paulo - São Carlos, Brazil
amandaliporini@gmail.com, flanças@iqsc.usp.br

Liquid Chromatography (LC) is a common separation technique in academic research and in industry activities. In order to get faster analysis and high resolving power, it is necessary to know which chromatographic parameters can affect the time and the separation of the analysis process. The fundamental chromatographic equation, initially developed for gas chromatography, has already described the use of smaller particles working at high pressures to promote faster and more efficient analysis. However, the main restriction to use smaller particles is to have a compatible equipment with high drop pressures. The goal of this work is to discuss a historical evolution of the particle size reduction and how such changes favored the development of ultra high pressure liquid chromatography (UHPLC). Additionally, meantime efforts to obtain gains in resolution without critical changes in the system, as the use of superficially porous particles, will be presented.

Acknowledgment: Capes, CNPq and FAPESP for financial support.

DETERMINAÇÃO DE FÁRMACOS EM PLASMA DE PACIENTES ESQUIZOFRÊNICOS POR 2D(MONOLÍTICO/C18)-LC-MS/MS

Diego S. Domingues*; Israel D. Souza; Maria E. C. Queiroz

Departamento de Química; Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto

Universidade de São Paulo – Ribeirão Preto

disrdom@usp.br

A esquizofrenia é um transtorno neuropsiquiátrico relativamente comum, crônico, e muitas vezes devastador, que afeta aproximadamente 1% da população mundial. Além de antipsicóticos, a maioria dos pacientes esquizofrênicos administram outras classes de fármacos, (antidepressivos, ansiolíticos e anticonvulsivos), para reduzir os sintomas associados a esta disfunção psiquiátrica. Neste trabalho, a cromatografia líquida bidimensional com detecção por espectrometria de massas em tandem com monitoramento de reações múltiplas em modo positivo foi utilizada para a determinação direta e simultânea dos fármacos (antipsicóticos, antidepressivos, ansiolíticos e anticonvulsivantes) em amostras de plasma de pacientes esquizofrênicos. Um capilar monolítico híbrido orgânico-inorgânico de sílica com grupo funcional cianopropil (45x0,53mm) foi sintetizado e usado na primeira dimensão (1D) para pré concentração dos analitos. Materiais monolíticos apresentam vantagens, tais como, alta permeabilidade para os fluidos biológicos, capacidade sortiva seletiva e adequada estabilidade mecânica e química. Após a injeção de 5 uL de amostra de plasma diluída em solução tampão, a fase móvel composta por água (solvente fraco) foi percolada pelo capilar monolítico (0,1 mL/min), durante 5 min para a sorção dos fármacos e remoção dos componentes endógenos da amostra de plasma da fase estacionária. Os fármacos foram eluídos (5-7 min) para a coluna analítica (2D) XSelect® CSH C18 (2,5µm, 2,1x100mm) com eluição por gradiente com fase móvel constituída de A (acetato de amônio 5 mmol/L + 0,1 % de ácido fórmico) e B (acetonitrila) e separados de 7 a 11 min. O método 2D-LC-MS/MS automatizado apresentou limites inferiores de quantificação (62,50 pg/mL a 1,25 ng/mL) inferiores aos preconizados nos intervalos terapêuticos, ampla faixa de linearidade e valores de exatidão e precisão inter e intra-ensaios segundo normas da ANVISA. Segundo os parâmetros de validação analítica avaliados, o método desenvolvido é adequado para monitorização de fármacos em amostras de plasma de pacientes esquizofrênicos. Este trabalho auxiliará no ajuste as doses dos fármacos administrados e verificará a anuência do paciente à terapia.

Este trabalho agradece ao suporte oferecido pela FAPESP (processo 2012/10705-9) e CNPq.



VALIDAÇÃO DE MÉTODO ANALÍTICO PARA DETERMINAÇÃO DE P-METOXICINAMATO DE OCTILA POR UPLC

Prado, A. H.; Borges, M.C.; Pestana, K. C.; Peccinini, R. G.; Chorilli, M.

Universidade Estadual Paulista – Campus de Araraquara

Faculdade de Ciências Farmacêuticas

alicehaddadp@gmail.com

A exposição da pele humana à luz solar pode causar danos como eritema, câncer e envelhecimento precoce da pele. Uma das maneiras de proteger a pele e, conseqüentemente, diminuir esses efeitos, é a utilização de filtros solares, como o p-metoxicinamato de octila (OMC). O OMC é um filtro solar orgânico que apresenta espectro contra UVB e tem sido muito empregado em formulações fotoprotetoras. O objetivo deste trabalho foi desenvolver e validar um método analítico para a determinação do p-metoxicinamato de octila por UPLC. Foi utilizado um UPLC® ACQUITY Waters com sistema de auto-injeção e detector UV operando em 310 nm. A separação dos componentes foi realizada utilizando uma coluna HSS C18 SB 1.8 µm (2.1 x 100 mm) com uma fase móvel de acetonitrila e água pH 3 acidificada com ácido fórmico 98%, em modo isocrático (80:20) com fluxo de 0,5 ml/min, volume de injeção de 20 µL e tempo de corrida de 3,5 minutos. A temperatura da coluna foi mantida em 24°C e a temperatura da amostra em 23°C, ambos em temperatura ambiente. O método obedece o “Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos” segundo a resolução da ANVISA (RE nº 899, de 29 de maio de 2003). A faixa de linearidade do método foi de 0,1 a 250 µg/mL em isopropanol ($r^2 = 0,999$). Os resultados de precisão e exatidão indicam valores adequados de CV (inferiores a 15%) demonstrando repetibilidade e reprodutibilidade satisfatórias para a aplicação do método. Os valores de limite de quantificação e limite de detecção foram igualmente considerados satisfatórios para a aplicação do método. O método foi considerado robusto através da variação das condições cromatográficas, incluindo temperatura da coluna, temperatura da amostra, fluxo da fase móvel, proporção da fase móvel, pH da água utilizada na fase móvel e tipo de coluna. O método analítico desenvolvido neste trabalho atendeu aos requisitos necessários para ser aplicado na quantificação do filtro solar em questão, sendo linear, preciso, exato e sensível.

Agradecimentos: CAPES.

DESENVOLVIMENTO DE ENSAIO DE PROFICIÊNCIA EM MEDICAMENTOS UTILIZANDO-SE CLAE

Carlos E. de O. Pereira¹, Gerson A. Pianetti¹, Scheilla V. C. de Souza¹

Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte - MG, Brasil
carlooseduardo.farmacia@gmail.com

O ensaio de proficiência (EP) é um tipo de programa interlaboratorial com o objetivo de comparar resultados emitidos pelos laboratórios participantes para uma avaliação de desempenho, possibilitando a identificação de pontos de melhoria para o sistema de gestão da qualidade (SGQ). Com a crescente demanda por provas regulares de competência pelos organismos reguladores e clientes, aumenta a relevância na participação em EP para todos os laboratórios que avaliam a qualidade de produtos. Além do baixo número de provedores de EP na área de medicamentos, os custos elevados para a participação inviabiliza, em muitos casos, que um laboratório participe de um número maior de EP. Neste trabalho, o escopo do EP foi a determinação por cromatografia a líquido de alta eficiência (CLAE), do teor do insumo farmacêutico ativo ácido mefenâmico. Assim, o objetivo foi desenvolver a formulação que compôs o item de ensaio e avaliar a capacidade técnica dos participantes na determinação do teor. Para a definição da composição do item de ensaio foram avaliadas misturas de ácido mefenâmico com diferentes excipientes, de forma a identificar qual destes possui melhor comportamento de não interferência nos resultados finais. Os excipientes testados foram estearato de magnésio, povidona K30, celulose microcristalina e laurilsulfato de sódio. Foram realizados ensaios de solubilidade das misturas na fase móvel e a verificação da seletividade do método. Em paralelo, foi feita a prospecção de laboratórios interessados em participar do EP. Esses fazem parte da rede nacional de vigilância sanitária coordenada pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Os resultados com as misturas demonstraram que a povidona K30 possui maior solubilidade na fase móvel, além de comprovarem que o método é estatisticamente seletivo para o ácido mefenâmico na presença desse excipiente. A concentração do ácido mefenâmico no item de ensaio era próxima a 90,00%. Após a definição da formulação do item de ensaio, foram realizados testes que garantiram que as amostras enviadas aos participantes foram homogêneas e estáveis durante o período de duração do programa. O valor designado foi determinado por meio da técnica estatística robusta que envolve o emprego da estimativa do algoritmo A, tendo-se como resultado 88,54%. Onze laboratórios participaram do EP, sendo que apenas 1 (um) obteve avaliação insatisfatória, o qual enviou resultado obtido de 98,73%. Considerando-se que o método utilizado proposto para este EP é simples para laboratórios que já o realizam em sua rotina de análise, esperava-se obter 100% dos resultados satisfatórios. Assim, cabe aos responsáveis pelo laboratório participante realizarem análise crítica e investigar quais as possíveis causas que levaram a obtenção de tal resultado.

Agradecimentos: ANVISA; CIFARMA; CNPq e FAPEMIG.



INFLUÊNCIA DA CONCENTRAÇÃO DE ÁGUA NA PREPARAÇÃO DE MONOLITOS DE TiO_2 PARA CLC

Carla G. A. da Silva (PQ)*, Carol H. Collins (PQ) e Carla B. G. Bottoli (PQ)

Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, Brasil
carlag@live.com

A cromatografia líquida capilar (cLC) apresenta grande potencial para separação de várias classes de compostos, especialmente biomoléculas, com algumas vantagens, como alta eficiência, resolução, e um baixo consumo de amostra. Nos últimos anos, monolitos tem sido amplamente utilizados como fases estacionárias (FE) para cLC, por apresentarem algumas vantagens, como fácil preparação, alta permeabilidade dos materiais, rápida transferência de massa e baixa backpressure^[1]. Além disso, a preparação dos monolitos não exige o uso de frits para isolamento da FE. Esse trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da concentração de água na preparação de FE monolíticas capilares a base titânica para uso em cromatografia por interações hidrofílicas (HILIC). As colunas capilares foram sintetizadas através do processo sol-gel, utilizando PEG (MW = 10.000 g/mol)(0,005 mol/L) como agente porogênico e tetrabutóxido de titânio como agente precursor. O efeito da concentração de água foi investigado utilizando cinco diferentes concentrações: 0,5, 1,0, 1,5, 2,0, 2,5 e 3,0 mol/L, mantendo quantidades fixas de ácido acético (2 mol/L) e tetrabutóxido de titânio (1 mol/L). A morfologia dos monolitos produzidos foi avaliada por microscopia eletrônica de varredura (MEV), fluorescência de raios-X, infravermelho com transformada de Fourier e termogravimetria. Os materiais com 1,5 mol/L apresentaram morfologia mais adequada para serem explorados em cromatografia líquida de interação hidrofílica (HILIC), com formas esféricas de 5-10 μm de diâmetro, sendo que acima de 2,0 mol/L, a formação dos monolitos não pode ser observada. A incorporação de titânio ao material foi de aproximadamente 99.5 %.

Referências bibliográficas:

[1] Y. Liang, L. Zhang, Y. Zhang, Anal. Bioanal. Chem. 405 (2013).

Agradecimentos: CNPq, FAPESP e INCT-Bioanalítica.

DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE MÉTODOS ANALÍTICOS PARA DETERMINAÇÃO DE SILDENAFILI

Taízia Dutra Silva; Ana Carolina Guimarães Ribeiro,
Cibele Rodrigues Toledo; Cristina D. Vianna-Soares

*Laboratório de Controle de Qualidade, Dept° Produtos Farmacêuticos.
Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). Belo Horizonte-MG
taiziadutra@yahoo.com.br*

Citrato de sildenafil (CSIL) é um potente inibidor da enzima fosfodiesterase-5 utilizado para o tratamento de disfunção eretil e hipertensão pulmonar. Devido à expiração da patente do medicamento referência (Viagra®) e ao crescente mercado de genéricos torna-se essencial o desenvolvimento de métodos analíticos simples para garantir a uniformidade de execução e interpretação de resultados analíticos, já que não há monografia descrita na Farmacopeia Brasileira para este fármaco. Foram desenvolvidos 2 métodos analíticos para quantificação de CSIL por espectrofotometria derivada de absorção no ultravioleta (EDU) e por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Para a determinação de CSIL matéria-prima ou comprimidos por EDU, selecionou-se o método zero-pico no λ 256 nm, 1ª derivada. Neste λ , foi possível eliminar interferência de até 7,2% devido aos excipientes presentes nos comprimidos. A validação foi realizada segundo a RE 899 (ANVISA, 2003). O método foi linear na faixa de concentração 10-40 $\mu\text{g/mL}$ ($y=0,0011x+0,0002$, $R^2=0,9996$) e apresentou repetitividade adequada (DPR<2,0%) nos níveis de concentração baixa, média e alta. A precisão intermediária foi avaliada em 3 dias e também apresentou valores de DPR satisfatórios nos 3 níveis avaliados. A veracidade foi avaliada em 3 níveis de concentração por meio do método placebo contaminado e os valores de recuperação obtidos estão dentro da faixa adotada como especificação (98-102%). Para a determinação de CSIL matéria-prima ou comprimidos por CLAE, utilizou-se coluna C8; fase móvel constituída de acetonitrila, metanol e solução de trietilamina (TEA) a 1% v/v, pH 7; fluxo 1,0 mL/min; 30 °C e detecção por UV/DAD λ 292 nm. Nessas condições, o CSIL apresentou fator de retenção 1,26 e tempo de retenção 4,25 min. A introdução de metanol e solução de TEA na fase móvel reduziu, consideravelmente, o fator de cauda ($T<1,2$), fornecendo picos mais simétricos. O método apresentou seletividade frente aos excipientes dos comprimidos e frente a produtos de degradação gerados em estudo de degradação forçada. O CSIL demonstrou grande sensibilidade à hidrólise oxidativa. A linearidade do método foi confirmada em ampla faixa, 10-110 $\mu\text{g/mL}$ ($y=11,76x-1,65$, $R^2=0,9997$) e apresentou repetitividade adequada (DPR<2,0%) em 4 níveis de concentração. A precisão intermediária foi avaliada em 3 dias e também apresentou valores de DPR satisfatórios nos 4 níveis avaliados. A veracidade foi avaliada por meio do método placebo contaminado e os valores de recuperação obtidos foram satisfatórios (98-102%) nos 4 níveis estudados. O método demonstrou ser robusto frente a pequenas alterações no fluxo, temperatura e proporção de acetonitrila. O método desenvolvido por CLAE apresenta vantagens frente a outros métodos descritos na literatura por proporcionar análise rápida, picos mais simétricos e boa eficiência de separação em relação a produtos oxidativos.

Agradecimentos: à FAPEMIG e à CNPq pelo apoio financeiro.



DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO ANALÍTICO PARA DETERMINAÇÃO DE DILTIAZEM EM FORMAS FARMACÊUTICAS SÓLIDAS

Mateus A. C. e Souza; Gerson A. Pianetti; Fernando H. A. Nogueira

*Laboratório de Controle de Qualidade, Faculdade de Farmácia,
Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte - MG, Brasil
mateusarsouza@yahoo.com.br*

Introdução: O diltiazem é um antagonista dos canais de cálcio, sendo utilizado no tratamento de arritmias cardíacas, da hipertensão e na prevenção de angina. Existem métodos analíticos descritos na literatura para a determinação de diltiazem em comprimidos e para a determinação de substâncias relacionadas em insumo farmacêutico e comprimidos. Um método analítico indicador de estabilidade foi encontrado na literatura, mas esse é demorado e incompatível para acoplamento com detector de massas. **Objetivo:** Desenvolver e validar um método analítico indicador de estabilidade para a determinação de cloridrato de diltiazem em comprimidos e cápsulas magistrais. **Métodos:** Utilizou-se coluna cromatográfica empacotada com sílica ligada a grupo octadecilsilano, 150 x 4,6 mm e tamanho de partícula de 5 µm. Diferentes fases aquosas foram testadas: ácido acético 0,1% (v/v), ácido fórmico 0,1% (v/v), tampão acetato de amônio-ácido fórmico e ácido trifluoroacético 0,05% (v/v). A melhor condição isocrática foi determinada pela avaliação dos parâmetros cromatográficos fator de retenção, número de pratos teóricos e assimetria 10% para o pico de cloridrato de diltiazem. As condições cromatográficas foram otimizadas avaliando-se a separação entre diltiazem e os produtos de degradação obtidos em meio aquoso, ácido, básico e oxidativo. O método analítico foi validado avaliando-se os parâmetros: seletividade, linearidade, intervalo, precisão, limites de detecção e quantificação, exatidão e robustez. **Resultados:** A fase aquosa de ácido trifluoroacético 0,05% (v/v) apresentou os melhores valores de fator de retenção, número de pratos teóricos e assimetria 10%. Os parâmetros cromatográficos da condição isocrática otimizada são: fase móvel composta por metanol, acidificado com ácido trifluoroacético 0,05% (v/v), e ácido trifluoroacético 0,05% (v/v) em água (56:44, v/v); fluxo de fase móvel de 1,0 mL/min; temperatura de 30 °C e comprimento de onda de detecção de 240 nm. O método demonstrou ser seletivo, com resolução maior que 2,0 entre o pico de cloridrato de diltiazem e os picos dos seis produtos de degradação obtidos no estudo de degradação forçada; linear, com coeficiente de determinação de 0,9995 e distribuição aleatória dos resíduos; exato, com recuperações médias entre 98 e 102%; preciso, com valores de DPR inferiores a 5%; e robusto, para variações de fluxo de fase móvel, porcentagem de solvente orgânico e temperatura. Os limites de detecção e quantificação foram de 0,15 µg/mL e 0,75 µg/mL, respectivamente. **Conclusão:** O método analítico foi validado de acordo com as legislações específicas e demonstrou ser seletivo para a determinação de cloridrato de diltiazem na presença de seus produtos de degradação, podendo ser utilizado durante estudos de estabilidade de medicamentos.

Agradecimentos: À CAPES, FAPEMIG e Farmacopeia Brasileira pelo apoio financeiro.

DEVELOPMENT OF A HILIC-UPLC-ELSD METHOD FOR DETERMINATION OF POLYOLS FROM BIOCONVERSION OF GLYCERIN

Pedro R. Fontes, José A.A. Ribeiro, Carolina M. Poletto,
Mônica C.T. Damaso, Patrícia V. Abdelnur, Clenilson M. Rodrigues*

Embrapa Agroenergia, PqEB, W3 Norte, 70770-901, Brasília-DF.

**e-mail - clenilson.rodrigues@embrapa.br*

Crude glycerin (70-80% of glycerol) is a co-product of the biodiesel production and nowadays has low commercial value for the chemical industries. Biotechnological processes can be used to transform this co-product into several high value-added chemicals, including sorbitol and xylitol which can have numerous applications in diverse industries sectors. In this context a representative analytical protocol to monitoring these processes is needed. This study presents a novel, simple and fast method developed and based on ultra-high performance liquid chromatographic (UPLC) method with evaporative light scattering (ELSD) for the determination of xylitol and sorbitol from bioconversion of glycerin. Cultivation medium containing glycerin as only carbon source were inoculated using 2 different filamentous fungi. The bioconversion process was evaluated using samples collected into 3 different times of fermentation. The chromatographic analyses were performed using a Waters UPLC System (H-class) coupled with an ELSD. The separations were carried out on an UPLC BEH amide column (2.1 x 150 mm, 1.7 μ m) equipped with its respective pre-column. The mobile phase was composed of A (water, 0.05% formic acid) and B (acetonitrile, 0.05% formic acid) and the separation was performed with isocratic elution, running with 85% of B. During the optimization procedures a default condition was defined as start point and each parameter was evaluated individually. Chromatographic (retention [k], selectivity [α], efficiency [HETP], column temperature and flow rate) and detector (nebulizer gas, drift tube temperature and nebulization mode) factors were used during the choice of the best condition and expressed as the intensity of signal and average of area. Under the optimized conditions, glycerol, xylitol and sorbitol were baseline separated within 6 min. The LOD and LOQ ranging from 15.63-31.25 ng and 31.30-62.50 ng, respectively. The method showed good precision, stability, repeatability, recovery and was successfully applied to the glycerin bioconverted samples. The polyols exhibited a good regression relationship to the log-log function ($R^2 > 0.99$) within the concentration ranges from 7.81 to 506.88 μ g/mL. Average recoveries were within the range of 98.8-105.7%. This new method represents an important analytical tool and besides to provide necessary information of the glycerin reutilization, it is a good choice that can help to select promising microorganisms during prospection studies. The proposed method has several advantages over the classical protocols that use HPLC-RID systems, including improved chromatographic efficiency, complete separation using isocratic elution, reducing analysis time and the consumption of the mobile phase. To the best of our knowledge, this is the first work that shows a method based on UPLC-ELSD to monitoring the glycerin conversion under biotechnological processes.

Acknowledgements: CNPq, FAPDF.



DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO RP-UPLC-PDA PARA DETERMINAÇÃO DE ÉSTERES DE FORBOL EM JATROPHA CURCAS

José A.A. Ribeiro*; Obede R. Ferreira; Karoline S. Oliveira;
Simone Mendonça; Patrícia V. Abdelnur; Clenilson M. Rodrigues

Embrapa Agroenergia, Parque Estação Biológica - PqEB, s/n, 70770-901, Brasília - DF.

**jose.ribeiro@embrapa.br*

O óleo de pinhão-mansão (*Jatropha curcas*) é uma matéria-prima promissora para a produção de biodiesel. A torta de pinhão-mansão, gerada no processo de extração do óleo, tem alto teor proteico, mas seu aproveitamento para nutrição animal é limitado devido à presença de ésteres de forbol (EF), componentes com elevado grau de toxicidade. Processos de destoxificação têm sido desenvolvidos, e a avaliação da sua eficiência depende da determinação quantitativa de EF no material destoxificado. Métodos e protocolos empregados na identificação e quantificação de EF em análises de rotina são escassos na literatura. As metodologias mais empregadas são baseadas em análises por HPLC, com tempo de análise em torno de 80 minutos e vazão de fase móvel da ordem de 1,3 mL/min. Neste trabalho é apresentado o desenvolvimento e validação de um método rápido para determinação de EF em torta de pinhão-mansão por cromatografia líquida de ultraeficiência (UPLC). As análises cromatográficas foram realizadas utilizando um sistema Waters Acquity H-Class acoplado ao detector de arranjo de fotodiodos (PDA). Como padrão de referência foi utilizado 12-O-Tetradecanoyl-Phorbol 13-Acetate (TPA), sendo os teores de EF nas amostras expressos em equivalentes de TPA. Durante o desenvolvimento do método, foram testados diversos parâmetros para otimização, a saber: série eluotrópica, força de eluição, taxa de variação do gradiente, colunas cromatográficas com diferentes fases estacionárias, temperatura das colunas e utilização de modificadores na fase móvel. Os parâmetros simetria, resolução, seletividade e pureza dos picos foram avaliados para a escolha da melhor condição cromatográfica. Nas condições otimizadas para o método, amostras (2 µL) foram injetadas em uma coluna Acquity UPLC HSS T3 (150 x 2,1 mm, 1,8 µm, Waters), com pré-coluna de mesmo recheio, mantidas a 45°C, e eluídas empregando gradiente de eluição quaternário, constituído por A: água contendo 0,05% de ácido trifluoracético; B: Acetonitrila; C: Metanol; e D: Isopropanol; a uma vazão de 0,4 mL/min. Para detecção dos EF, o comprimento de onda do PDA foi ajustado em 280 nm, com aquisição 3D na faixa de 210 a 400 nm. Nestas condições, os EF foram eluídos entre 7,4 e 8,5 minutos, com tempo de corrida total de 15 minutos, incluindo limpeza e reequilíbrio da coluna. O método foi aplicado efetivamente em amostras reais e apresentou linearidade na faixa de 10 a 5000 ng de TPA ($R^2 > 0,999$). Os limites de detecção e quantificação foram 2,5 ng e 10 ng, respectivamente. A recuperação foi avaliada em três níveis de concentração, variando entre 96-99%, com boa repetibilidade (RSD < 2%). Comparado ao método HPLC, o novo método representa uma redução de 4,5 vezes no tempo de análise e de aproximadamente 15 vezes no consumo de solventes, implicando em menores impactos econômicos e ambientais.

Agradecimentos: SEG-EMBRAPA, FINEP, FAPDF.

FAST, HIGH-EFFICIENCY SEPARATIONS ON A 4 MICROM ION EXCHANGE PHASE WITH A HIGH-PRESSURE IC SYSTEM

Carl Fisher¹, Barbara Shao¹, Maria Rey¹, Linda Lopez¹, Marc Yves Chalom²

*Thermo Fisher Scientific, ¹Sunnyvale, CA, USA, ²São Paulo, SP, BR
marc.chalom@thermofisher.com*

Running any column at increased flow rates may cause a decrease in peak resolution. However, the superior chromatographic fidelity achieved using the new 4 μm columns minimizes such losses, to provide better separation of ions in complex matrices. Faster flow rates reduce run time and increases productivity when multiple samples are being analyzed, but back pressure is also increased, which is typically >3000 psi. To take advantage of the benefits of 4 μm columns, they should be combined with a high-pressure instrument which can operate continuously at up to 5000 psi using eluent generation. This study demonstrates that 4 μm columns combined with a high-pressure ion chromatography system achieve efficient separations and fast analyses. Inorganic anions in fruit juice, wine, or drinking and waste water samples were separated using a Dionex IonPac™ AS11-HC-4 μm column or Dionex IonPac AS18-4 μm anion-exchange column in standard and microbore formats. The Dionex IonPac CS19-4 μm cation-exchange column was used to separate cation standards. These columns were used with a high-pressure Ion Chromatograph system. Eluent suppressors were operated either in recycle mode or external water mode, with suppressed conductivity detection. Multiple inorganic anions and organic acids were separated in single runs of fruit juice and wine samples, using a standard (4 mm i.d.) format Dionex IonPac AS11- HC-4 μm column. Several of the separated components showed enhanced resolution of up to 68% using the 4 μm particle size column relative to the 9 μm counterpart. Inorganic anions in municipal drinking and waste water samples were separated within 5 min with resolution above 1.6 (EP) using a 4 μm particle size Dionex IonPac AS18-4 μm microbore (2 mm i.d.) format column. Inorganic cations were eluted in less than 12 minutes by a combination of increased flow rate and an eluent gradient using the Dionex IonPac CS19-4 μm , 4 mm i.d. column.



OTIMIZAÇÃO MULTIVARIADA DOS PARÂMETROS DE DETECÇÃO PARA AÇÚCARES POR ELSD

Simone C. Chiapetta^{1*}, Joana P. M. Carletto¹, Frederico G. L. Pereira¹,
Tayná S. Vargas¹ e Annibal D.P.Netto²

¹Laboratório de Tabaco e Derivado, DQAN, INT - RJ,

²Universidade Federal Fluminense, UFF-RJ

*simone.chiapetta@int.gov.br

Açúcares podem ser adicionados ao tabaco por indústrias visando a maior aceitação do mesmo pela população uma vez que mascaram o gosto ácido gerado pela fumaça na garganta. O trabalho tem como objetivo a otimização dos parâmetros de detecção do espalhamento de luz (ELSD) para determinação de açúcares através de “Ultra Performance Liquid Chromatography” (UPLC). Um planejamento experimental baseado na matriz Doehlert foi projetado, através da face quadrada, para a otimização das condições de detecção como temperatura do nebulizador, vazão do gás nebulizador e temperatura do “drift tube” buscando o aumento de sensibilidade do método. A pressão do gás nebulizador foi estudada em 5 níveis (20-60 psi), a temperatura do “drift tube” em 5 níveis (60-100 °C) e temperatura do nebulizador em 3 níveis (12-24 °C), gerando um experimento com 13 combinações. Para avaliação do mesmo, utilizou-se uma solução padrão com mix de açúcares (frutose, glicose e sacarose) com concentração de 1000 mg/L preparada em meio aquoso. A coluna utilizada foi a Acquity UPLC BEH Amide (50 x 2,1 mm x 1,7 µm), volume de injeção igual a 0,5 µL e fase móvel Acetonitrila:Água (80:20 com 0,2% TEA, %v/v) e Acetonitrila:Água (30:70 com 0,2% TEA, %v/v) com eluição gradiente de 0,17 a 0,25 mL/min. A área dos analitos foi o parâmetro utilizado como fator de resposta e através da função de desejabilidade foi possível obter a melhor combinação entre os parâmetros para a detecção simultânea dos açúcares, sendo esta: 20 psi equivalente a 1,6 mL/min para a vazão do gás nebulizador, 60 °C para a temperatura do “drift tube” e 24 °C para a temperatura do nebulizador. A comparação entre a condição inicial e a otimizada neste trabalho se deu através da análise da sensibilidade da curva analítica (coeficiente angular) adquirido pela equação da reta gerada pelos mínimos quadrados contendo 6 níveis que variaram de acordo com o açúcar analisado (glicose: 1000-3500 mg/L, frutose: 1000-3500 mg/L e sacarose: 100-2000 mg/L). O ganho de sensibilidade obtido com a otimização dos parâmetros de detecção foi de 8,5% para frutose; 9,0% para glicose e 20% para sacarose, sendo este resultado de alta relevância devido as baixas concentrações de sacarose encontradas na matriz de tabaco onde a condição será aplicada em estudos futuros.

Agradecimentos ao INT, ANVISA, CNPq e CIEE.

LIQUID CHROMATOGRAPHY METHODS FOR THE CHARACTERIZATION OF AQUEOUS PHASE FROM BIO-OILS

D. Tomasini, F. Cacciola, F. Rigano, D. Sciarrone, P. Donato, M. Beccaria,
C. Zini, E. Caramão, P. Dugo, L. Mondello

¹University of Messina, Messina, Italy,

²Ins. of Chemistry - UFRGS, Porto Alegre, Brazil

³University Campus Bio-Medico of Rome, Rome, Italy

claudialcaraz@gmail.com; elina@ufrgs.br

In this work two analytical liquid chromatography methods were developed and compared for the characterization of aqueous phases from pyrolysis of lignocellulosic biomasses (coconut fibers, sugarcane straw and sugarcane bagasse). Due to the complexity of the matrix, powerful methods with high selectivity are required. A very interesting approach is nanoLC-electron ionization mass spectrometry (EI-MS). Thanks to the reduced amounts of effluent eluted from a nanoLC column, the liquid phase can be directly introduced into a common GC quadrupole mass spectrometer, simply through a fused silica capillary tube of internal diameter smaller than 30 μm . The use of nano-scale flow rates, the highly reproducible and detailed information of EI spectra are the principal advantages of this technique. On the other hand, the use of comprehensive LC, allowed to solve co-elutions, leading to detection of a higher number of compounds, due to its increased peak capacity. Despite the use of reversed phase modes in both dimensions, a satisfactory degree of orthogonality was achieved by the employment of a smart design of gradient elution strategies in the second dimension in combination with photodiode array detection and atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry. Because of the absence of preliminary extraction procedure, the fingerprint obtained for these samples was independent of the extraction yields or contaminations, differently from the approach of using GC-MS after liquid-liquid extraction of the water phase. The main classes of identified compounds were phenols, ketones, furans and alcohols which have important uses in chemical industries, e.g. ketones in chemical synthesis, phenols as disinfectant, resins or pesticides and furfurals as lubricants, adhesives, plastics, and nylons.

Acknowledgments: CAPES BEX 0495/13-1, EMBRAPA TC, PON01_01499.



ESTUDO DA DEGRADAÇÃO DO ÁCIDO FÓLICO EM FARINHA DE TRIGO E PÃO FRANCÊS COM A UTILIZAÇÃO DE U-HPLC

Daniela Andrade Neves¹, Giovanna Pisanelli Rodrigues de Oliveira², Helena Teixeira Godoy¹

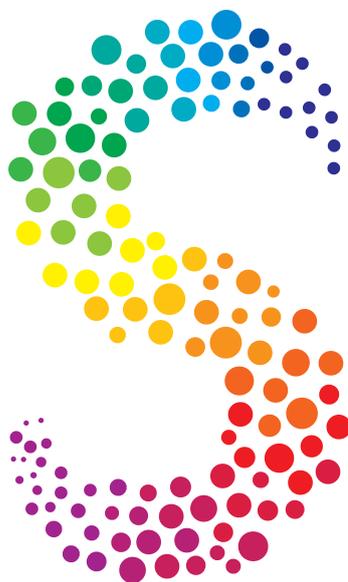
¹Departamento de Ciência de Alimentos, Faculdade de Engenharia de Alimentos,

UNICAMP, Campinas, SP – ²SENAI Rua Tagipuru 242 São Paulo -SP

danieelaandradeneves@gmail.com

A deficiência de ácido fólico (AF) no organismo pode provocar má formação congênita durante a gravidez, doenças cardiovasculares e degenerativas. Com a finalidade de reduzir o número de casos relacionados ao baixo consumo de AF, foram implantados no Brasil programas de fortificação de alimentos com AF. O objetivo desse trabalho foi avaliar a perda do AF na homogeneização da farinha de trigo e após o processamento de pão francês. Para a fortificação da farinha de trigo isenta, esta foi homogeneizada com 261 µg AF /100g de farinha por 35 min em homogeneizador em “V”. Posteriormente, foi utilizada uma formulação convencional para o preparo do pão francês, os quais foram assados a temperatura de 220°C durante 17 minutos na presença de vapor. Os pães foram produzidos em três dias diferentes em uma panificadora de Campinas-SP. As amostras de pão e farinha de trigo fortificada foram secas, homogeneizadas e extraídas com 3 mL de KOH 0,1 mol.L⁻¹. Em seguida, o extrato obtido foi limpo com 0,5 mL de ácido tricloroacético. Então, o extrato foi centrifugado e filtrado em membrana Millex® de 0,22 µm de poros. Por fim, 10 µL de amostra foi imediatamente analisado. Para a quantificação do AF nos extratos obtidos foi utilizado um cromatógrafo líquido de ultra performance (UPLC) com coluna Hypersil Gold C18, 50 mm x 2,1 mm d.i e tamanho de partícula de 1,9 µm. As fases móveis utilizadas foram água (eluente A) e acetronitila (eluente B) acidificadas com 0,4% de ácido fórmico. O gradiente de eluição empregado teve início com 100% A e foi diminuindo até atingir 91% A em 1,4 min. A vazão da fase móvel foi de 0,600 mL.min⁻¹ a uma pressão de 6200-8400 psi., sendo o tempo de retenção do ácido fólico de 1,55 min. A detecção foi feita em um detector de arranjo de diodos (DAD) a um comprimento de onda na região do ultravioleta de 290 nm. No presente estudo foi verificado que a farinha de trigo fortificada (261 µg AF /100g de farinha) apresentou uma concentração média de 225,01±18,55 µg AF/100 g de farinha de trigo. Portanto, 14,9±7,02% do AF adicionado a farinha de trigo foi perdido após sua homogeneização. Durante a etapa de homogeneização da farinha de trigo foi incorporado oxigênio. Deste modo, ocorreu uma maior exposição do AF ao oxigênio, favorecendo assim sua oxidação. Após o assamento o pão francês apresentou uma concentração de AF de 158,2±10,1 µg / 100g farinha, deste modo 29,7±4,9 % do AF presente na farinha de trigo foi perdido no pão francês após seu preparo e forneamento. Apesar das perdas do AF, o pão francês tem contribuído para o aumento do consumo dessa vitamina, visto que os produtos panificados são bastante consumidos por todas as classes sociais e em todas as regiões do Brasil.

Agradecimentos: Os autores agradecem ao CNPq e a panificadora por ceder seu espaço e as matérias primas.



SEÇÃO L

DETERMINAÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS EM ÓLEO VEGETAIS E ANÁLISE DAS COMPONENTES PRINCIPAIS

Érico Vinícius Rocha Sanches*, Nilva Ré, Luiz Herinque Vianna

*Departamento de Química, Universidade Federal do Mato Grosso do Sul,
Av. Senador Filinto Muller, 1555 – Cidade Universitária, 79080-190, Campo Grande – MS*

**ericoviniciu27@gmail.com*

A implantação e/ou o aumento da produção de espécies alternativas de oleaginosas no período de safrinha pode melhorar a renda do agricultor e contribuir para o fortalecimento do sistema de rotação de culturas. Contudo, a produção de óleo vegetal e biodiesel a partir de fontes alternativas requer segurança e eficácia, dentro outros parâmetros a determinação dos teores de ácidos graxos nos óleos se faz necessária. Neste trabalho foram estudados os teores de ácidos graxos de três diferentes oleaginosas: Crambe (*Crambe abyssinica*) Nabo forrageiro (*Raphanus sativus* L) e Níger (*Guizotia abyssinica*) cultivadas no estado de Mato Grosso do Sul. Os óleos extraídos das sementes limpas e secas em aparelho Soxhlet com hexano apresentaram rendimento de 44,7 %, 42,45 % e 28,19 % para o Crambe, Nabo Forrageiro e Níger respectivamente. O processo de esterificação empregou catálise básica com NaOH em metanol e n-heptano como solvente de extração. A técnica para a determinação dos ésteres metílicos dos ácidos graxos foi a cromatografia em fase gasosa (GC) com detector por ionização em chama (FID). Para verificação da exatidão do método os padrões Tricaprina, Tricaprilina, Trilaurina, Trimiristina, Tripalmitina e Trioleína foram adicionados as amostras. As curvas analíticas apresentaram coeficientes de correlação linear (R^2) entre 0,9909 e 0,9977 e os limites de quantificação instrumental entre 0,5 a 2,0 mg/L. A recuperação foi considerada quantitativa e o método foi aplicado às amostras de óleo. As análises por GC-FID foram efetuadas usando uma coluna capilar de sílica fundida com fase estacionária de 70% de cianopropil polisilfenileno-siloxano (30 m x 0,25 mm x 0,25 μ m). Hélio com teor de pureza 99,9992 % como gás de arraste a um fluxo constante de 1,0 mL min⁻¹. A temperatura do forno foi de 80 °C (isoterma de 2 min), elevada a 220 °C com aquecimento de 4 °C min⁻¹. Injetor e detector foram mantidos a 200 °C e 250 °C, respectivamente. A identificação dos picos foi feita por comparação dos tempos de retenção com os de padrões de ésteres metílicos de ácidos graxos (Mix FAME C4:C24- Supelco). Para o óleo de Níger, o ácido graxo majoritário foi o Linoléico, para o óleo de Crambe e Nabo Forrageiro o ácido erúico. A análise das componentes principais (ACP) foi aplicada aos dados experimentais autoescalados e centrados na média, para verificar as possíveis semelhanças e/ou diferenças entre as amostras e a sua correlação entre as variáveis. Na 1ª componente principal (92,45%) as amostras de Níger se diferenciam das amostras de Crambe e Nabo Forrageiro. A variável que apresenta maior peso para esta diferenciação é o alto teor de ácido linoléico encontrado nas amostras de óleo de Níger. Na 2ª componente principal (7,53%) o maior teor de ácido oléico nas amostras de óleo de Nabo Forrageiro e o alto teor de ácido erúico nas amostras de óleo de Crambe, são os principais diferenciais entre esses óleos.

Agradecimentos: Agradecemos aos órgãos de fomento CNPq, FUNDECT e CAPES.

GCXGC COMO UMA FERRAMENTA PARA A DETERMINAÇÃO DE MARCADORES BIOLÓGICOS EM ÓLEO CRÚ

Noroska Gabriela Salazar Mogollón, Paloma Santana Prata, Fabio Augusto

*Rua Josué de Castro - Caixa Postal 6154 - CEP 13084-971,
Cidade Universitária "Zeferino Vaz" - Barão Geraldo - Campinas - SP, Brazil
gaby867@gmail.com*

Os marcadores biológicos são amplamente utilizados para determinar a origem, maturação e biodegradação do óleo. Estes compostos são encontrados originalmente na matéria orgânica, e são capazes de resistir o processo de biodegradação durante a produção do óleo. A resistência à biodegradação destes biomarcadores depende principalmente da sua estrutura química. Portanto, sua determinação é usada para extrair informação acerca da matéria orgânica existente na rocha e suas condições de deposição. Os biomarcadores, principalmente, isoprenoides, terpanos e esteranos são usados para a determinação dos parâmetros geoquímicos mencionados anteriormente. No entanto, sua caracterização química é um desafio para o analista devido à alta complexidade da amostra como: alta diversidade estrutural e grande número de constituintes e frequentemente marcadores importantes são encontrados em concentrações extremamente baixas. A fim de abordar estas deficiências, técnicas cromatográficas acopladas a espectrometria de massas (GC-MS) são frequentemente usadas para gerar os perfis analíticos destes biomarcadores. mas, o uso da cromatografia convencional não fornece a capacidade de pico requerida necessárias para resolver todos os analitos encontrados em amostras de óleo cru. Sendo assim analitos como, terpanos tri- e pentacíclicos ou que eluem perto, como no caso dos isoprenoides mono- di- e tri aromáticos, terpanos tri- e pentacíclicos, esteranos e esteranos aromáticos sofrem coeluição. Durante a análise por GC-MS, a detecção de analitos pode ser realizada de dois maneiras; sob fullscan ou no modo de monitoramento seletivo de ions (modo SIM) utilizado para análises específicas. Em qualquer dos modos pode ser obtida informação qualitativa que pode ser utilizada para proporcionar informação necessária para a caracterização química da amostra, no entanto, os resultados obtidos por estes métodos são alterados pelo grande número de coeluições observadas devido ao baixo poder de resolução da técnica. Vale destacar que se temos conhecimento acerca da estrutura do biomarcador que se deseja identificar, pode se obter seletividade adicional por médio do acoplamento em tandem de espectrometros de massas. Assim, o monitoramento de reações múltiplas (MRM) são usados exclusivamente para análises de compostos alvos ou para elucidação estruturas, no entanto esta técnica não pode ser utilizada quando a procura de novos biomarcadores é o objetivo principal. Neste sentido, técnicas multidimensionais tem sido uma alternativa bastante interessante na análise de amostras complexas como o óleo cru, já que proporciona alta capacidade de pico, detectabilidade e resolução necessárias para a separação, caracterização e procura de novos compostos característicos. No presente trabalho, GCxGC foi utilizado com a finalidade de medir os parâmetros geoquímicos de dois óleos brutos de diferentes níveis de biodegradação.

Agradecimentos: Petrobras, Capes, CnPq.



MONITORAMENTO DA OXIDAÇÃO DO BIODIESEL DE GIRASSOL VIA CROMATOGRAFIA GASOSA

Caroline T. Rockembach, Marco A. Z. dos Santos, Bruno N. da Rosa,
Victoria de Moraes Gonçalves, Claudio M. P. de Pereira

Universidade Federal de Pelotas, RS, Brasil
Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Bioprospecção,
Laboratório de Lipidômica e Bio-orgânica-LLipidomicBio
tuch.rock@gmail.com

A busca por combustíveis de fontes renováveis vem crescendo com uma grande intensidade para que estes biocombustíveis possam substituir os combustíveis fósseis, em virtude da possibilidade de esgotamento das fontes de petróleo, mas principalmente devido à poluição causada com a queima de combustíveis petrolíferos, provocando assim um eminente prejuízo ao planeta. No Brasil, ainda este ano a ANP (Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis) objetiva passar para 7% o percentual de biodiesel em óleo diesel comercializado. Em particular, o biodiesel é um produto instável quando exposto a altas temperaturas, diferentemente dos combustíveis derivados do petróleo os quais são estáveis frente a altas temperaturas, mesmo na presença de oxigênio. A oxidação do biodiesel torna-o mais denso devido a hidrogenação das ligações insaturadas, podendo torná-lo impróprio ao uso. O objetivo do trabalho consiste em monitorar o processo de degradação térmica do biodiesel de girassol por meio de análise Cromatográfica Gasosa por Detecção de Ionização de Chama (CG - DIC) de forma periódica, pois a composição de ácidos graxos indica a estabilidade oxidativa do biocombustível. Para as análises cromatográficas foi utilizado um GC/FID 2010 marca Shimadzu. As análises de conversão dos ácidos graxos em metil ésteres seguiram a Norma Européia - EN 14103, obteve-se uma conversão de 97,4 % superando o valor mínimo de 96,5 % estipulado pela ANP. O perfil de ácidos graxos foi realizado por comparação ao padrão C8C24 e o cálculo de porcentagem por área normatizada. Após 65 dias de armazenamento em estufa a 50 °C observou-se variação na concentração dos ácidos graxos presentes na amostra, a concentração de ácido linoléico (C18:2n6c) passou de 56 % para 41,6 %, gama-linolênico (C18:3n6) de 0,34 % para 0,27 %, alfa-linolênico (C18:3n3) de 1,74 % para 0,78 %. Com a diminuição dos poliinsaturados houve um considerável aumento dos monoinsaturados como o ácido palmitoléico (C16:1) o qual variou de uma concentração de 0,13 % para 0,21 %, assim como o ácido oléico (C18:1n9c) que aumento de 26,9 % para 36,8 %, assim como a concentração do ácido palmítico (C16:0) também foi aumentada de 7,4 % para 10,7 %. Acarretando assim em um aumento na viscosidade do biodiesel, a qual passou de 4,06 para 9,09 mm²/s, o aumento da viscosidade pode levar a um empacotamento mais efetivo das cadeias carbônicas dos ácidos graxos, liberando parte dos resíduos do biodiesel e aumentando assim a possibilidade de entupimento dos motores. Através dos resultados obtidos verificou-se a importância do acompanhamento cromatográfico para averiguar a estabilidade oxidativa do biodiesel, assim como a efetividade da metodologia proposta. A partir deste estudo infere-se a necessidade de novas pesquisas relacionadas a compostos os quais possam estabilizar/retardar o processo de degradação deste combustível renovável.

Agradecimentos: SINC, Capes, UFPel, PPGBBio.

COMPARAÇÃO DE MÉTODOS POR CG/EM E IV PARA ANÁLISE DE TEOR DE BIODIESEL EM MISTURAS BIODIESEL: DIESEL

Daniella Lopez Vale (PG) ; Debora de Almeida Azevedo (PQ);
Michelle Jakeline Cunha Rezende (PQ)

Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Química
dannyvale13@hotmail.com

A produção de biodiesel a partir de biomassa tem sido empregada como alternativa energética aos combustíveis fósseis, por ser uma fonte de caráter renovável, e pela sua contribuição para a diminuição na poluição gerada, tanto quantitativamente quanto qualitativamente. Apesar das vantagens da adição de biodiesel ao diesel, ainda existem algumas desvantagens. O biodiesel apresenta em sua composição ésteres graxos insaturados que podem sofrer degradação com o tempo devido à oxidação de suas ligações duplas. A instabilidade do biodiesel durante o armazenamento, pode trazer alguns problemas em relação a conservação e funcionamento adequado do motor. A análise atualmente regulamentada pela ANP para determinar o teor de biodiesel em diesel é a análise por espectroscopia na região do infravermelho (IV), método NBR 15568. Porém, alguns dos produtos de degradação gerados durante o processo de estocagem podem ser interferentes, gerando falsos positivos. Portanto, para analisar o teor de biodiesel em diesel faz-se necessário utilizar um método quantitativo que promova uma especificação, para que assim possa ser realizada uma análise quantitativa e seletiva, para que sejam evitados erros analíticos. Para esse fim foi utilizado um método de análise por Cromatografia em fase Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (CG/EM), realizando quantificações no modo de monitoramento seletivo de íons (MSI), tornando a análise mais seletiva e sensível. Para tanto foi realizado um planejamento fatorial para além de avaliar o processo de degradação, comparar o método de análise vigente (IV) com o proposto (CG/EM). A utilização de uma técnica multidimensional hifenando duas técnicas de separação proporcionou um método de análise mais confiável. Os métodos foram comparados através de testes estatísticos com um nível de 95% de confiança, demonstrando que o método proposto por CG/EM é estatisticamente não equivalente ao método NBR 15568. Conclui-se que o método em uso para avaliar a o teor de biodiesel em misturas biodiesel:diesel deve ser alterado, utilizando um método mais seletivo, conforme avaliado neste estudo, utilizando a CG/EM.

Os autores agradecem ao CNPq, Capes, a PGQu, LEMA, LADETEC, LABCOM e ao Lada.



ANÁLISE DE COMPOSTOS OXIGENADOS EM AMOSTRAS DE FISCHER-TROPSCH POR GC×GC-TOFMS

Fernandes, D. R.¹, Pereira, V. B.¹, Stelzen, K. T.¹,
Gomes, A. O.², Azevedo, D. A.¹, Aquino Neto, F. R.¹

¹Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Química, LADETEC/ LAGOA, RJ, Brasil

²Petrobras, CENPES/ PDP/ TPAP, Ilha do Fundão, RJ, Brasil

daniella.iq.ufrj@gmail.com

A tecnologia GTL (do inglês, “gas to liquid”) é considerada como o refino do futuro, e versa sobre a transformação do gás natural em combustíveis líquidos e petroquímicos limpos e de alta qualidade, através da produção de gás de síntese. Além disso, apresenta vantagens ambientais ligadas à redução da poluição atmosférica, contribuindo, principalmente, para o aproveitamento de dióxido de carbono. A síntese de Fischer-Tropsch (FT) consiste na conversão desse gás de síntese em hidrocarbonetos e compostos oxigenados. A identificação e quantificação dos produtos indesejáveis dessa reação, como os oxigenados, é importante para o monitoramento do processo GTL e constitui um grande desafio analítico. Os ácidos carboxílicos merecem atenção especial, pois embora estejam em quantidades de traços e co-eluem junto aos alcanos ramificados em técnicas cromatográficas convencionais (1D-GC), estes tendem a afetar a acidez, o odor e a corrosividade das correntes do processo GTL. Nesse contexto, surge a cromatografia gasosa bidimensional abrangente acoplada a espectrometria de massas por tempo de voo (GC×GC-TOFMS), que fornece uma melhor separação das classes de compostos e identificação individual dos mesmos, com um aumento significativo da sensibilidade, seletividade e poder de separação. Sendo assim, compostos oxigenados em quantidades de traços, especialmente alcoóis e ácidos carboxílicos, foram quantificados em amostras produto de síntese de FT através da técnica GC×GC-TOFMS. Todas as amostras foram previamente derivatizadas, promovendo uma melhor identificação e resolução dos respectivos derivados trimetilsilanizados, devido a formação de fragmentos [M-15]⁺ estáveis após a ionização. Os compostos foram identificados e quantificados de acordo com seus cromatogramas de íons extraídos, através de seus íons diagnósticos. Usou-se n-hexadecano-d34 como padrão interno, além de padrões externos para a quantificação dos analitos. Os alcoóis identificados variaram de 5 a 19 e os ácidos de 4 a 11 átomos de carbono, e a concentração total dos compostos oxigenados variou de 2,69 a 14,00 mg/g, sendo os ácidos os minoritários (0.31 a 2.40 mg/g). Os alcoóis eluíram abaixo dos ácidos carboxílicos na região do plano cromatográfico bidimensional, devido a sua menor polaridade e maior interação com a fase estacionária. Na primeira dimensão, observou-se tanto para os alcoóis quanto para os ácidos, com o mesmo número de átomos de carbono, maior tempo de retenção para os ácidos carboxílicos em função de sua menor volatilidade. Portanto, a visualização dos cromatogramas de íons extraídos m/z 145+14n apresentou a estruturação de pares ácido-álcool, onde os ácidos apresentaram um átomo de carbono a menos na estrutura quando comparado ao álcool. Portanto, a GC×GC-TOFMS mostrou-se bastante viável para a quantificação de alcoóis e ácidos carboxílicos a nível de traços em amostras de sínteses de FT.

Agradecimentos: CNPq, Cenpes/Petrobras, FAPERJ e FUJB.

ÓLEO DE GIRASSOL NA PRODUÇÃO DE BIODIESEL: OTIMIZAÇÃO DE MÉTODOS EM MICROONDAS E ULTRASSOM

Marco A. Z. Santos;Caroline T. Rockembach;Bruno V. Muchale;
Chayane P. Flores; Jessica T. Martins;Claudio M. P. de Pereira

Universidade Federal de Pelotas (UFPeI)
Centro de Ciências Químicas Farmacêuticas e de Alimentos
e-mail: marcsantoss@hotmail.com

O biodiesel é um biocombustível constituído de ésteres alquílicos produzidos através da reação de transesterificação de um triacilglicerol com álcool, usualmente metanol ou etanol na presença de um catalisador homogêneo ou heterogêneo. Existem vários critérios utilizados pela ANP (Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis) segundo a Resolução nº 14, de 11.5.2012 - DOU 18.5.2012 para certificação de qualidade dos biocombustíveis. Um destes critérios é o teor de éteres mínimos que deve conter o biodiesel. Segundo a ANP este teor deve ser $\geq 96,5\%$. Uma das normas utilizadas pela ANP para quantificação de ésteres no biodiesel é a EN14103. O objetivo deste trabalho foi avaliar os processos de obtenção do biodiesel metílico a partir da transesterificação do óleo de *Helianthus annuus* (girassol) assistidos por microondas e ultrassom utilizando catálise básica, variando a razão óleo/álcool e tempo de reação. No processo de produção do biodiesel foi utilizado um microondas na potência de 200 W, temperatura a 65 °C, variação molar óleo/álcool de 1:6, 1:9 e 1:12; tempo de reação de 1, 2 e 4 min; catalisador: KOH em 0,5 %. Na reação de transesterificação do biodiesel por ultrassom foi utilizado amplitude de 20 %, 25 %, 30% e 35%; tempo de reação de 10, 15, 20 e 25min; catalisador: KOH em 0,5 %. Os resultados mostraram que as reações assistidas por ultrassom acima de 15 min em todas as amplitudes e com razão molar de óleo/álcool em 1:12, bem como as reações em microondas com tempo de 2 min, 200 W, 65 °C e razão molar de óleo/álcool 1:12 apresentaram os teores de ésteres acima de 96,5 %, ficando de acordo com as normas da ANP. Comparando os dois métodos podemos concluir que os resultados apresentados foram satisfatórios, quando comparados as normas da ANP e que entre os dois métodos a transesterificação assistida por microondas apresentou melhores resultados que em ultrassom quando utilizamos como parâmetro o tempo reacional.

Agradecimentos - UFPeI, PPGBBio, Capes.

DETERMINAÇÃO DO TEOR DE ÉSTER EM BIODIESEL POR HPLC/ UV-VIS: ALTERNATIVA PARA AMPLIAR A CAPACIDADE DE MONITORAMENTO DA QUALIDADE DE BIOCOMBUSTÍVEIS

Mirra Angelina Neres da Silva(IC), Mariana de Sousa Gomes (IC),
Isabel Cristina Pereira Fortes (PG)

*Instituto de Ciências Exatas/Departamento de Química/UFMG.
Av. Antônio Carlos, 6627 -31270-901-Belo Horizonte/MG
mirrajolie@yahoo.com.br; mariana.ufmg@hotmail.com*

Introdução: O biodiesel é um biocombustível que pode ser obtido a partir da transesterificação de óleos vegetais e gordura animal¹. As novas exigências de controle de emissões veiculares estabelecidas pela legislação e o fato de o biodiesel possuir características similares ao diesel tais como viscosidade e conteúdo energético tornam crescente o interesse nesse biocombustível.^{1,2} Garantir a qualidade do biodiesel é imprescindível para que haja benefício na utilização dessa fonte de energia visto que o emprego de um biodiesel de má qualidade pode comprometer o funcionamento dos veículos. O teor de éster é um indicador de qualidade. Pode ser determinado pela norma EN14103. No entanto, o uso desta norma restringe-se às amostras que apresentem elevado teor de éster, pois a presença de subprodutos torna inviável a sua utilização. Este trabalho visa o desenvolvimento de uma metodologia para a determinação do teor de éster em biodiesel utilizando HPLC com detecção de UV-Vis(DAD). **Metodologia:** As análises cromatográficas foram realizadas em um cromatógrafo a líquido Shimadzu[®], modelo LC-20AT com sistema de gradiente quaternário. O detector empregado foi UV-Vis (DAD) modelo SPD 20A e a separação foi realizada em uma coluna Kinetex[®](ODS) de 150 mm x 4,6mm com partículas de 2,6 µm. Metanol, isopropanol, hexano, água e ácido fórmico de grau cromatográfico foram empregados como eluentes. Com o intuito de comparar a metodologia oficial com a que foi proposta, prepararam-se amostras de biodiesel de acordo com as recomendações da EN14103 e analisou-se por cromatografia gasosa (CG). Posteriormente, analisou-se por HPLC e neste caso calculou-se o teor de éster usando os fatores resposta das cadeias que são frequentemente encontradas no biodiesel, estimados em função do C19:0. A partir da relação, $f = \frac{A_{C_{19:0}} * M_{Cx}}{(M_{C_{19:0}} * A_{Cx})}$ ³; onde f é o fator de resposta, M_{Cx} é a massa de uma das cadeias frequentes, M_{C_{19:0}} é a massa do C19:0 e A_{Cx} é a área de uma das cadeias frequentes. Os fatores de resposta foram estimados na faixa de 1 a 10 mg/mL. **Resultados e Discussões:** Foram analisadas por HPLC e CG amostras de biodiesel constituídas por misturas de sebo bovino e óleo de soja. Os resultados obtidos pelas duas técnicas não diferiram significativamente. Por exemplo, para uma amostra de biodiesel encontramos por CG um teor de éster de 98,5% ± 3,8% e por HPLC 97,1 % ± 4,3 %. Deve-se ressaltar que na CG, considera-se que o C19:0 apresenta o mesmo fator de resposta para todos os ésteres analisados que compõem o biodiesel. Isso pode ser a explicação para as diferenças encontradas nos desvios. **Conclusão:** Os resultados obtidos pelo método proposto não diferiram significativamente dos que foram obtidos pelo método oficial. Isso demonstra o potencial do método apresentado como um recurso para análise quantitativa e qualitativa de biodiesel. Pois este permite a identificação das principais cadeias alquílicas que compõem o biodiesel com resolução satisfatória, considera o fator de resposta de cada cadeia individualmente e diminui as restrições em relação ao teor de subprodutos nas amostras de biodiesel.

Referências

- ¹Lôbo, I. P.; Ferreira, S. L. C.; Cruz, R. S. Biodiesel: parâmetros de qualidade e métodos analíticos. *Quim. Nova*, 2009, Vol.32, No.6, 1596-1608.
 - ²Díaz, L. e Borges, M. E.. Low-Quality Vegetables Oils as Feedstock for Biodiesel Production Using K-Pumice as Solid Catalyst Tolerance of Water and Free Fatty Acids Contents. *J. Agric. Food Chem.* 2012, 60,7928-7933.
 - ³Visentainer, J., V.. Aspectos Analíticos da Resposta do Detector de Ionização em Chama para Ésteres de Ácidos Graxos em Biodiesel e Alimentos. *Quim. Nova*, 2012, 35, n°2, 274-279.
- Agradecimentos: À ANP, ao PRH e a FINEP.

ANALYSIS OF COMPLEX PETROCHEMICALS BY GC×GC-TOFMS WITH SELECT-EV VARIABLE-ENERGY ELECTRON IONISATION

Chris Llewellyn¹, Júlio César²

¹Markes International, Gwaun Elai Medi-Science Campus, Llantrisant, RCT, CF72 8XL, UK

²Nova Analítica, São Paulo, SP, BR

julio.cesar@novanalitica.com.br

Crude oil contains thousands of organic compounds ranging from light hydrocarbons to complex biomolecules. Speciation of hydrocarbons is of great interest to the petroleum industry, as certain isomers may have an adverse effect on engine performance if present in high quantities in the final fuel. Furthermore, chemical fingerprinting of crude oil has become extremely important for identification of those responsible for environmental contamination events. In the past, such complex samples were analysed by chemical fractionation followed by one-dimensional gas chromatography with mass spectrometry (GC-MS). However, fractionation is a time-consuming, labour-intensive process, which uses large volumes of solvents and can be prone to error. Two-dimensional gas chromatography coupled with time-of-flight mass spectrometry (GC×GC-TOF MS) is now used routinely in the oil industry to combat this problem. The coupling of two columns of different selectivity provides enhanced separation of complex mixtures, allowing all chemical classes to be monitored in a single analytical run. Despite the superior separation afforded by GC×GC, the identification of individual compounds in complex samples remains challenging when multiple compounds in a chemical class have similar spectra at conventional (70 eV) ionisation energies. Branched alkanes are a prime example, with weak molecular ions that further complicate the process. Spectral similarity can be addressed by the use of soft ionisation to reduce the degree of ion fragmentation, but this approach has been cumbersome to implement until now. In this study, we show how the problem of compound identification in petrochemical samples can be resolved without recourse to the time-consuming analysis of multiple standards. We achieve this by the application of Select-eV, a revolutionary MS source technology that enhances compound identification by enabling efficient electron ionisation at much lower (softer) energies without compromising sensitivity. We also show how Select-eV complements the other fundamental advantages of Markes' BenchTOF time-of-flight mass spectrometers for the GC×GC identification of hydrocarbons. Variable-energy electron ionisation technology is also shown to enhance analyte speciation by providing additional data on both molecular ions and structurally significant fragments in the low-energy mass spectra. The enhanced sensitivity and selectivity stemming from the dramatic reduction in fragmentation at low energies also greatly increases the number of compounds identified, permitting robust statistical comparisons essential for successful chemical fingerprinting.



DETERMINAÇÃO DE ÂNIONS NA MATRIZ BIODIESEL POR HPLC

V.P. Amaral, L.M.L.A Auler, I.C.P Fortes

*Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Departamento de Química,
Av. Antônio Carlos, 6627, CEP 31270-901 Belo Horizonte – MG, Brasil
vitorpaixaoamaral@hotmail.com*

Introdução: O biodiesel é um biocombustível composto de monoalquil-ésteres produzidos principalmente a partir da transesterificação de óleos vegetais e resíduos de óleos, que substitui parcial ou totalmente o diesel de petróleo. A qualidade do biodiesel varia de acordo com as matérias primas utilizadas, com as etapas do processo produtivo e a forma de estocagem. Dentre os parâmetros de especificação do biodiesel, estabelecidos pela ANP, o máximo permissível para o teor de enxofre total e fósforo total é 10 mg/kg. Uma vez que estes elementos são responsáveis por problemas ambientais, de incrustações no motor, diminuição do desempenho do catalisador automotivo e corrosão de partes metálicas. Ambos podem ser encontrados na forma de ânions inorgânicos oxigenados, como: sulfato e fosfato. Embora os ânions cloreto não tenham seu teor normatizado pela ANP, seu estudo no biodiesel é importante devido sua conhecida corrosividade. **Objetivo:** Este estudo foi realizado visando se obter e otimizar uma metodologia para a determinação de ânions de interesse no biodiesel utilizando-se, como ferramenta analítica, a Cromatografia por Troca Iônica e Par Iônico, com detecção por condutividade e por fotometria indireta, respectivamente. **Metodologia:** Considerando-se que a determinação dos ânions não pode ser realizada de forma direta devido à complexidade do biodiesel, esta matriz foi submetida a um pré-tratamento. O pré-tratamento consistiu de numa extração líquido-líquido na proporção 3:1, onde o material foi submetido à agitação mecânica, centrifugação, separação de fases e filtração da fase aquosa para ser analisada no HPLC, utilizando as modalidades acima citadas. A quantificação dos ânions foi realizada a partir de curvas analíticas de padrão externo. **Resultados e Discussões:** A Cromatografia por Troca Iônica obteve melhores resultados para os ânions cloreto e sulfato, com concentrações da ordem de 0,5 mg/L e recuperações de extrações da ordem de 90%. Enquanto que para Cromatografia por Par Iônico os melhores resultados encontrados foram para os ânions fosfato, com concentração na ordem de 1,0 mg/L e recuperação de extração de 81%. **Conclusão:** A Cromatografia Líquida, nas modalidades Troca Iônica e Par Iônico são ferramentas promissoras para a determinação dos ânions cloreto, sulfato e fosfato na matriz de biodiesel considerando os resultados obtidos nas separações dos analitos e na curva univariada de cada ânion. Atualmente, não existe nenhuma norma oficial para a determinação destes ânions na matriz de biodiesel. Embora suas determinações sejam importantes, pois a presença destes pode acarretar problemas nos motores.

Agradecimentos: Ao Laboratório de Ensaio de Combustíveis (LEC-UFMG) e a ANP/PRH pelo apoio financeiro.

CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA E ESPECTROFOTOMETRIA APLICADAS À QUANTIFICAÇÃO DE BIODIESEL

Bueno-Borges, L. B.; Casale, D. E.; Santos, G. C.; Regitano-Darce, M. A. B.

Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz / Universidade de São Paulo

Av. Pádua Dias, 11 – Piracicaba – SP, Brasil. CEP: 13418-900

larissabueno@usp.br; marisadarce@usp.br

A produção de ésteres alquílicos de alta pureza depende da eficiência da reação de transesterificação. Amostras que apresentam elevados teores de mono-, di- e até mesmo triglicerídeos, revelam conversões incompletas de óleo em biodiesel. Dessa forma, a determinação do teor de ésteres alquílicos é essencial na quantificação do rendimento de biodiesel obtido. Organizações internacionais de padronização preconizam métodos oficiais que envolvem o uso de equipamentos de cromatografia gasosa. Frente à impossibilidade de utilização de métodos de cromatografia de alta resolução e de maior complexidade, buscou-se implementar uma técnica analítica colorimétrica de oxidação inespecífica da matéria orgânica pelo reagente de dicromato de potássio em ácido sulfúrico concentrado. Amostras de biodiesel de teor de ésteres etílicos conhecido foram avaliadas para validar o método. A separação de moléculas foi realizada por cromatografia em camada delgada (CCD). Amostras de biodiesel foram individualmente diluídas com hexano até concentração aproximada de 50µg/µL e eluídas em placa de sílica gel, 1000µm, utilizando fase móvel de acetato de etila:hexano 1:13 (v/v). As bandas isoladas de biodiesel foram visualizadas através da pigmentação com vapores de iodo ressublimado, delimitadas com lápis e aquecidas em estufa a 90°C para total eliminação da coloração. Após o período de 1 hora sob aquecimento, as bandas de interesse foram manualmente transferidas, pela raspagem com lâmina, para o interior de tubos de vidro para digestão com o reagente. O período de incubação com 3,5mL de reagente foi realizado em banho-maria a 100°C durante 40 minutos. A quantificação de ésteres foi realizada pela medida da mudança de cor em espectrofotômetro a 350nm. O dicromato ácido foi capaz de oxidar completamente a fração isolada de ésteres etílicos, determinando corretamente os teores previamente conhecidos à variação máxima de 2,05%. A mudança de cor foi proporcional à quantidade de ésteres existente, qualificando o método como apto para quantificação desse tipo de fração lipídica. A CCD foi uma ferramenta necessária para o isolamento das frações de éster etílico de interesse, possibilitando a quantificação específica desta fração de compostos. Os resultados demonstraram que é possível estabelecer uma relação direta entre a quantidade de dicromato consumida e a massa de ésteres etílicos presente na amostra. No entanto, esta relação é somente válida para análises comparativas entre grupos de moléculas de composição química semelhante.

Agradecimentos à empresa Granol (Bebedouro-SP), pelo fornecimento da soja laminada fresca. À CAPES pela bolsa de mestrado concedida.



AVALIAÇÃO DA COMPOSIÇÃO DE HIDROCARBONETOS EM DIESEL APÓS HIDROTRATAMENTO UTILIZANDO CGXCG

Cleber Vinicius Ursini, Klaire Cerqueira Paes,
José Luiz Zotin, Fátima Dutra Faria

Petrobras - Cenpes
cleber.ursini@petrobras.com.br

O aumento da demanda de diesel no mercado mundial e o desenvolvimento de novos processos de refino para atender exigências legais cada vez mais rigorosas têm exigido um conhecimento mais detalhado da composição dos destilados médios (150-400oC) utilizados para compor o diesel combustível. Porém o petróleo e seus derivados contêm uma grande variedade de compostos, principalmente hidrocarbonetos. Conforme o número de átomos de carbono aumenta o número de isômeros aumenta exponencialmente. Devido à extrema complexidade da maioria das amostras petroquímicas, as técnicas cromatográficas convencionais não apresentam resolução suficiente para gerar informações sobre componentes individuais das frações mais pesadas que as naftas. O implemento da técnica de cromatografia gasosa bidimensional abrangente (CGXCG) possibilitou um ganho na separação através de uma segunda dimensão cromatográfica, que tem permitido obter análises mais detalhadas de diesel, através da separação de famílias de hidrocarbonetos em grupos distintos em diferentes regiões dos cromatogramas. Com objetivo de entender melhor como ocorrem os processos químicos envolvidos no hidrotreamento do diesel para gerar produtos especificados, foram realizadas análises em amostras de diesel coletadas antes e depois do hidrotreamento através de CGXCG com detector de ionização em chama de hidrogênio. O equipamento utilizado foi Thermo Trace GCXGC Thermo com modulador criogênico de gás carbônico de duplo estágio equipado com uma coluna 100% dimetilpolissiloxano para a primeira dimensão e uma coluna de poli(dimetildifenilssiloxano) contendo 50% de monômero difenilssiloxano para a segunda dimensão. Os resultados mostraram uma redução significativa na concentração de compostos di- e triaromáticos com conseqüente aumento de concentração de compostos monoaromáticos, com destaque para monoaromáticos naftênicos, que são resultantes da hidrogenação de um dos anéis dos compostos diaromáticos, como o naftaleno.

IMPROVING ACCURACY AND PRECISION IN CRUDE OIL BOILING POINT DISTRIBUTION ANALYSIS

Daniel Kazakevicius; Leonardo Noguchi

Rua Minerva 129 São Paulo-Brasil

daniel@pensalab.com.br; leonardo.noguchi@pensalab.com.br

High Temperature Simulated Distillation (HT SIMDIS) is one of the most frequently used techniques to determine the boiling point range of the whole crude oil range. Accuracy of data for this analysis plays a key role in determining crude value and it is a tool for decision-making during the refining process in order to improve yields and also enhance the quality of the final product. It is no secret that the most valuable cuts of the crudes are present in the lighter part of them. These “essential” products play a vital role in the worldwide economy. The accurate analysis of crude oil samples is a challenge due to: 1) Samples having a very wide boiling point range (<100°C to >750 °C); 2) API gravity ranges from light to heavy; 3) Viscosity of the sample. HT SIMDIS is a Chromatography technique that requires minimum operator involvement and a small sample amount compared to other techniques for boiling point distribution. There are currently several SIMDIS methods available and widely used for boiling point determination. The method referenced here is ASTM D7169, which has a boiling range from 36° C to 720° C (97° F to 1328° F), which covers the N-alkane range from C5 to C100. This range is a region where the majority of the wanted products will boil. Material eluting above C100 can be estimated using a recovery calculation that involves a relation between Response Factors from that specific sample and a known Reference Gas Oil. On accepted HT SIMDIS methods, one of the critical points of attention for analyzing crudes with light components is the quenching effect of the solvent influencing the FID response in the first part of the chromatogram. This disturbance caused by the co-elution of the CS₂ peak together with other light components in that region, causes a slightly biased readout in calculated boiling point results. This effect is well documented and is also known to cause a lower analytical precision for that specific part of the boiling point data for the crude sample when being analyzed only by HT SIMDIS. To obtain better precision results, standardization committees are adopting new methods that use a data merge of a separate Detailed Hydrocarbon Analysis for Front End (DHA FE) with the HT SIMDIS analysis. ASTM D7900 – which is equivalent to IP 601 - and ASTM D7169 are examples describing this process. Data obtained from DHA up to C9 are merged by specific software with the >C9 data from HT SIMDIS analysis to obtain a single boiling point range curve for the whole crude oil with improved precision and accuracy. In order to validate this merge capability, a round robin was organized where more than 13 labs using HT SIMDIS and about 10 labs using DHA-FE were involved. Comparing boiling point data and method precision statement clearly show the improved results for the DHA- FE method over HT SIMDIS. The merge point used for these analyses was 150°C which is equivalent to C9.

Aknowledgements: Juliana Tamanqueira - Fundação GORCEIX, Julio Cesar Magalhães Dias - Petrobras/CENPES and Jorge Colonia - PAC LP.



EMPREGO DO GC-BID NA VALIDAÇÃO DE UM NOVO MÉTODO PARA A QUANTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS NITROGENADOS EM AMOSTRAS DE DIESEL COMERCIAL BRASILEIRO

Aline N. Silva^{1*}, Gabriela P. S. Maciel¹, Maria Elisabete Machado¹, Elina B. Caramão^{1,2}

¹Instituto de Química - UFRGS, Av. Bento Gonçalves, 9500, 91510-960 Porto Alegre, RS, Brasil

²Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Energia e Ambiente, www.inct.cienam.ufba.br

*E-mai: lilicans@hotmail.com

No Brasil a predominância do transporte rodoviário faz do diesel o derivado de petróleo mais consumido no país. Atualmente, em termos de controle de emissões de poluentes ambientais as especificações técnicas dos combustíveis estão cada vez mais rigorosas. Compostos nitrogenados ocorrem naturalmente em amostras de petróleo e seus derivados. No diesel combustível, os compostos nitrogenados podem ser separados em compostos básicos e neutros. Piridinas, quinolinas e benzoquinolinas têm sido reconhecidas como as principais classes de contaminantes básicos, enquanto indóis e carbazóis são considerados contaminantes neutros. Essas substâncias contribuem para a contaminação do meio ambiente e seu controle é necessário porque a maioria delas são potencialmente cancerígenas e mutagênicas. Embora vários métodos de análise de compostos nitrogenados em diesel são conhecidos, a demanda por maior sensibilidade de análise tem aumentado nos últimos anos. Por estas razões, um método rápido e sensível foi desenvolvido e validado para a quantificação dos compostos nitrogenados em três amostras de diesel comercial, utilizando GC-BID, cromatógrafo gasoso equipado com detector de ionização de plasma (BID), um novo detector capaz de alta detecção e sensibilidade para compostos orgânicos e inorgânicos. Neste estudo, foi proposto um método para a determinação e quantificação de compostos nitrogenados nas amostras de óleo diesel sem tratamento prévio a partir da adição de padrões. A metodologia analítica mostrou uma alta especificidade e sensibilidade, boa precisão e exatidão e LOD de 10-79 $\mu\text{g L}^{-1}$ e LOQ de 50-265 $\mu\text{g L}^{-1}$, coeficientes de determinação (R^2) acima de 0,995 para a faixa de concentração de 0,05 a 3 mg L^{-1} para todos os compostos nitrogenados da solução padrão. Os valores de desvio padrão relativo (RSD) para as áreas ficaram abaixo de 2%, mostrando que se trata de um detector robusto e com alta sensibilidade.

Agradecimentos: Petrobrás, CNq e CAPES.

PRODUÇÃO DE BIODIESEL COM FLUÍDOS PRESSURIZADOS E SUA CARACTERIZAÇÃO UTILIZANDO HRGC

Leidimara Pelisson (PG), Fernando M. Lanças (PQ)

Laboratório de Cromatografia - Instituto de Química de São Carlos

Universidade de São Paulo - Brasil

leidimarap@gmail.com

O esgotamento das reservas de petróleo, bem como o impacto ambiental que o seu processamento provoca, tem induzido a busca por fontes alternativas de energia para substituir os fósseis de petróleo como combustível automotivo. No Brasil, o crescimento do agronegócio e o consequente uso dos seus produtos e resíduos de fontes vegetais, favoreceram incríveis descobertas tais como matérias-primas para biocombustíveis, incluindo bioetanol derivado de cana de açúcar e biodiesel de óleos vegetais. Neste sentido, o biodiesel tem recebido grande destaque nos últimos anos. O objetivo do presente estudo foi a produção de biodiesel de óleo de soja empregando metanol ou etanol como álcoois pressurizados, além da análise da influência da adição de água nas melhores condições alcançadas. Para tal, uma unidade experimental de bancada foi construída. Para investigar a influência das variáveis que influenciam o rendimento das reações no sistema estudado, um planejamento fatorial foi adotado, no qual foram investigados os efeitos da temperatura (180 e 300°C), do tempo de residência (10 minutos a 1 hora), da razão molar óleo:alcool (1:10 e 1:50), e da concentração de água (0 a 10% massa em relação ao óleo) sobre a conversão em ésteres da reação, que foi monitorada por cromatografia gasosa de alta resolução (HRGC). Observou-se que a temperatura possui forte influência na conversão em ésteres da reação, com os melhores resultados para o metanol ou etanol (95% de conversão) tendo sido obtidos na temperatura de 300°C. A adição de água (5 e 10% em relação ao óleo) ocasionou um leve aumento na conversão (98%) para ambos metanol e etanol. Então, concluiu-se que condições similares no rendimento do biodiesel de óleo de soja em reator em batelada foi obtido utilizando metanol ou etanol pressurizados em condições supercríticas.

Agradecimentos - CAPES, IQSC - USP, IIC.



AUTOMAÇÃO DO PROCESSO DE SEPARAÇÃO DE FRAÇÕES DE PORFIRINAS DE ÓLEOS POR CROMATOGRAFIA EM SÍLICA-GEL

Daniel M. Silva*, Álvaro J. Pereira,
Christiane B. Duyck, Tatiana D. Saint'Pierre

*Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro,
Rua Marquês de São de Vicente 225, Gávea 22451900, Rio de Janeiro, Brasil*

**danielmartins_2@hotmail.com*

Práticas de cromatografia são comuns em laboratório, mas esta etapa pode ser demorada e, normalmente requer a constante supervisão de um especialista que também é sujeito a erros. A determinação de elementos associados a compostos orgânicos no petróleo fornece informações importantes sobre a origem e qualidade do óleo. No processo de determinação de elementos associados a porfirinas no petróleo, a cromatografia líquida em sílica-gel com detecção espectrofotométrica em linha é usada para separar frações de porfirinas a partir de frações de parafinas, aromáticos e polares (fração PAP)^[1]. Esta etapa dura algumas horas e tem que ser feita sob a supervisão constante de um técnico, que modifica os capilares de saída e entrada de acordo com a absorbância medida. A automação desse processo irá gerar um benefício, tanto na eficiência da separação cromatográfica, como na melhor gestão do tempo do técnico em serviço. O objetivo do trabalho é desenvolver e construir um sistema para automação do processo de separação de frações de porfirinas, a partir das frações de parafinas, aromáticos e polares (fração PAP) de óleos de referência e de óleos brasileiros, usando a cromatografia líquida em sílica-gel com detecção em linha. O Arduino possui um software próprio de fácil manipulação, porém tem a desvantagem de não possuir interface com o usuário^[2], que pode ser feita através da integração com o LabVIEW, que é um software da National Instruments, e que permite também o armazenamento e gerenciamento de dados^[3]. Para a automação da cromatografia líquida em sílica-gel, foi usado um sistema com um LED, ligado ao Arduino, que emite na faixa de 400 nm (UV), direcionado para uma cubeta de quartzo que recebe a saída da coluna e um sensor de luz isolado. A automação foi programada com LabVIEW. O sistema de automação desenvolvido foi testado para a separação de frações de porfirinas que já haviam sido previamente separadas empregando o sistema cromatográfico antes da automatização. Pode-se concluir que a automação da cromatografia em sílica-gel de porfirinas de petróleo a partir das frações PAP resultou em separações mais eficientes, com melhor precisão, e aumento na capacidade de trabalho que pode ser realizado no laboratório.

Referências

- [1] DUYCK, C et al. The determination of trace elements in crude oil and its heavy fractions by atomic spectrometry. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, Volume 57, Issue 12, 2 December 2002, Pages 1979–1990.
- [2] <http://www.arduino.cc/>, acessado em 07/07/2014.
- [3] <http://www.ni.com/download-labview/pt/>, acessado em 07/07/2014.

Agradecimentos à Faperj, CNPq e Petrobras pelo financiamento.

CARACTERIZAÇÃO DE BIO-ÓLEO DE PALHA DE CANA DE AÇÚCAR: FRACIONAMENTO PRESSURIZADO E GCXGC/QMS

Michele E. da Cunha^{1*}, Lisiane dos Santos Freitas²,
Andrea Pinho³, Fábio L. Mendes³, Elina B. Caramão¹

¹IQ - UFRGS, RS, Brasil

²DQ - UFS, SE, Brasil

³CENPES/PETRBAS, RJ, Brasil

micheledacunha@hotmail.com

A maior parte da energia utilizada atualmente é retirada de fontes não renováveis como carvão, petróleo e gás natural. Estes além de estarem na iminência de extinção são obtidos através de processos que causam uma combinação de problemas ambientais, motivando a busca por alternativas de energias renováveis e ambientalmente corretas. O bio-óleo, mistura complexa de compostos orgânicos de elevada polaridade, originados na degradação térmica da celulose, hemicelulose e lignina, possui potencial para ser utilizado como biocombustível e também como material de partida para obtenção de produtos químicos. A completa compreensão da composição do bio-óleo é uma condição fundamental para esclarecer os mecanismos e propriedades do mesmo. Considerando seu perfil complexo, a aplicação da cromatografia gasosa bidimensional abrangente com detector de espectrometria de massas com analisador quadrupolar de varredura rápida (GC×GC/qMS) é um recurso satisfatório para sua caracterização. Esta técnica aliada a algumas ferramentas computacionais permite a identificação e classificação de compostos de acordo com fatores como a classe química, o número de átomos de carbono, o número de substituintes na cadeia carbônica, a massa molecular e os picos principais no espectro de massas. Outra importante ferramenta na identificação de compostos é o sistema de LTPRI (índice de retenção linear com temperatura programada), que favorece uma confirmação mais exata de compostos na cromatografia. Este trabalho descreve a utilização de GC×GC/qMS e aplicação do sistema de LTPRI, para a caracterização e confirmação de compostos de bio-óleo obtido a partir da pirólise de palha de cana-de-açúcar, e de suas frações resultantes de fracionamento pressurizados aplicando solventes de diferentes polaridades. A análise comprovou que o bio-óleo de palha de cana-de-açúcar estudado é composto majoritariamente por fenóis (2-metilfenol, 3,4-dimetilfenol e 4-metilcatecol), além de aldeídos (4-hidróxibenzaldeído e siringaldeído), os quais após o fracionamento puderam ter suas concentrações determinadas na amostra de forma inequívoca pela técnica de cromatografia gasosa. O passo de fracionamento promoveu uma melhor seletividade dos compostos dentro das frações. Verificou-se um número total de 331 compostos tentativamente identificados no bio-óleo bruto e destes 166 foram confirmados por identificação LTPRI, em sua maioria compostos polares. Para as frações, totalizando, foram identificados 330 compostos, sendo 171 confirmados por identificação LTPRI, também em sua maioria, compostos polares.

Referências

- [1] Moraes, M.S.A.; Caramão, E.B. et al. ; Fuel Processing Technology 101, 2012, 35-43.
- [2] da Cunha, M.E.; Caramão, E.B. et al. ; Microchemical Journal 110, 2013, 113-119.
- [3] Zhang, L.; et al. Renewable and Sustainable Energy Reviews 24, 2013, 66-72.
- [4] Schneider, J.K.; Caramão, E.B.; et al. Journal of Chromatography A, 1356, 2014, 236-240.

Agradecimentos: UFRGS, CNPq e Petrobras.



AVALIÇÃO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DA FASE AQUOSA DO BIO-ÓLEO OBTIDO POR PIRÓLISE CATALÍTICA

Daniela Dal Molin¹, Michele E. da Cunha^{1*}, Juliana M. Silva¹,
Andrea Pinho², Fábio L. Mendes², Elina B. Caramão¹

¹Instituto de Química - Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS

²PETROBRAS/CENPES/PDAB/TFCC, Ilha do Fundão, Rio de Janeiro, RJ, Brasil

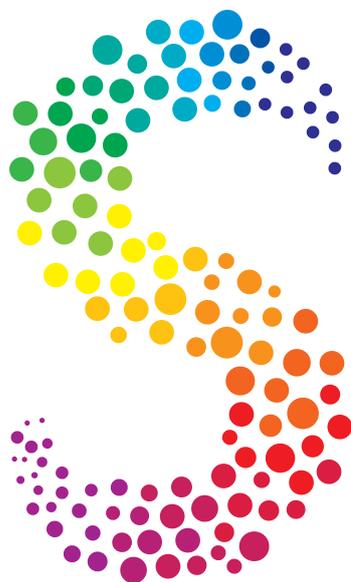
micheledacunha@hotmail.com

O bio-óleo é um líquido de coloração marrom escura composto por uma mistura complexa de hidrocarbonetos oxigenados com uma apreciável quantidade de água originada da umidade natural da biomassa e também como produto das reações de desidratação que ocorrem durante o processo de pirólise^[1]. Os compostos oxigenados são os principais responsáveis pela instabilidade e pelo baixo poder calorífico do bio-óleo. A pirólise catalítica é uma alternativa para melhorar as propriedades do bio-óleo para o uso deste como fonte de combustíveis, pois pode favorecer a formação de hidrocarbonetos. A zeólita ZSM-5 é um dos catalisadores com bons resultados na conversão de compostos oxigenados em hidrocarbonetos aromáticos^[2]. A presença de água no bio-óleo também afeta as suas propriedades físico-químicas. Sendo que a quantidade de água no bio-óleo pode variar de 20 a 40 % dependendo das condições de pirólise e da biomassa utilizada. Desta forma, a remoção da água do bio-óleo aumenta a eficiência para o uso deste como fonte de combustíveis. Além do mais, a fase aquosa pode ser fonte de matéria-prima para a obtenção de compostos com valor agregado como fenóis e furfural. Neste trabalho, bagaço de cana-de-açúcar foi pirolisado num reator de leito fluidizado à temperatura de 550 °C com e sem a utilização do catalisador ZSM-5^[3]. Após a separação da fase aquosa do bio-óleo, fez-se uma extração líquido-líquido (LLE) nas fases aquosas para isolar os compostos orgânicos presentes. A composição química dos extratos obtidos das fases aquosas foram analisadas utilizando a cromatografia gasosa bidimensional abrangente acoplada ao espectrômetro de massa por tempo de voo (GCxGC/TOFMS). Para esta análise cromatográfica utilizou-se um jogo de colunas convencional (OV5/DB17), e os dados obtidos foram processados utilizando um método do software ChromaTof. A identificação tentativa dos compostos foi realizada comparando os espectros de massa do composto desconhecido com os espectros da biblioteca NIST. Os compostos orgânicos presentes nos extrato orgânico foram classificados em dez classes químicas. Ambos os extratos orgânicos gerados a partir da pirólise com e sem catalisador apresentam pequena quantidade de hidrocarbonetos, resultado esperado, pois os compostos mais apolares tendem a permanecerem no bio-óleo. A maior quantidade de compostos identificados tentativamente nos extratos pertencem as classes químicas cetonas e fenóis. No extrato orgânico obtido a partir da pirólise catalítica, cerca de 34 % dos compostos são cetonas, enquanto no extrato gerado a partir da pirólise não catalítica, cetonas correspondem a cerca de 32 %. De acordo com resultados, ambas as fases aquosas são ricas em cetonas e fenóis.

Referências

- [1] Bridgwater, A.V.; Chem. Eng. J., 91, p. 87–102, 2003.
- [2] Gopakumar et al. 2012. Bioresource Technology, 118, 150-157
- [3] Mendes et al. 2013. Defect and Diffusion Forum, 334-335, 13-18.

Agradecimentos: UFRGS, CNPq e Petrobras.



SEÇÃO M



EXTRAÇÃO DE CONTAMINANTES ORGÂNICOS EMPREGANDO CONCHAS DE MEXILHÃO COMO SUPORTE SÓLIDO PARA MSPD

Jean Lucas de Oliveira Arias, Caroline Rombaldi, Gabriel Ianzer Hertzog,
Sergiane Souza Caldas, Ednei Gilberto Primel

*Laboratório de Análise de Compostos Orgânicos e Metais – LACOM;
Escola de Química e Alimentos – EQA, Universidade Federal do Rio Grande – FURG
jeanarias@furg.br*

A técnica de Dispersão da Matriz em Fase Sólida (MSPD) está baseada na homogeneização da amostra com auxílio de um suporte sólido, que atua como abrasivo causando a ruptura da estrutura física da amostra, a qual sofre uma dispersão na superfície do material suporte, formando uma nova fase que proporciona o isolamento do analito na matriz. A busca de novos materiais para emprego na MSPD tem sido alvo de estudos, entre os quais podemos citar terra diatomácea e areia. Visto que as conchas dos mexilhões são compostas basicamente por 95% de carbonato de cálcio e 5% de matéria orgânica, elas podem apresentar potencial para ser aplicado como um suporte sólido. Assim, este trabalho teve por objetivo o preparo e a caracterização da concha de mexilhão dourado (*Limnoperna fortunei*) para ser usado como suporte sólido na MSPD para extração de 19 contaminantes orgânicos em amostras de tecido de mexilhão e determinação por Cromatografia Líquida acoplada a Espectrometria de Massas em série (LC-MS/MS). As conchas de mexilhão foram inicialmente lavadas com água destilada, secas em estufa à 100°C, maceradas com auxílio de gral e pistilo e peneiradas (mesh 2 mm). O material obtido foi submetido à caracterização por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), Espectroscopia Dispersiva de Raios-X (EDS), Espectroscopia na Região do Infravermelho (IR) e BET. A separação cromatográfica foi realizada em um cromatógrafo líquido Waters Alliance 2695, acoplado a um espectrometro de massas com analisador triplo quadrupolo Micromass Quattro Micro API. A coluna utilizada foi a Kinetex C18 (2,6 µm; 50 × 3 mm d.i.) e fase móvel composta por água ultrapura acidificada com 0,1% de ácido fórmico e metanol, em modo de eluição por gradiente. Após caracterização, o material (concha) foi empregado durante a otimização da MSPD, demonstrando resultados equivalentes ao C18, que é o suporte sólido mais empregado. As condições de extração, após otimização foram: dispersão por 5 min de 0,5 g de amostra com 0,5 g de sulfato de sódio e 0,5 do suporte sólido. Após homogeneização com gral e pistilo, a mistura é transferida para um tubo de polipropileno seguido da adição de 5 mL de acetato de etila, agitação em vórtex por 1 min e centrifugação por 5 min à 5000 rpm. Uma alíquota é retirada e determinada por LC-MS/MS. O método proposto apresentou linearidade ($r^2 > 0,98$). Os Limites de Quantificação variaram entre 0,01 a 0,1 µg g⁻¹, com recuperações entre 61-107% e precisão (RSD) entre 3-18% para todos os analitos. O efeito matriz foi avaliado e foi menor que 18% para todos os analitos. Assim, o método proposto mostrou ser eficiente para determinação de 19 contaminantes em amostras de tecido de mexilhão utilizando um suporte sólido alternativo.

Agradecimentos: CAPES, FINEP, PETROBRAS, ANP, CORSAN e FURG.

PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL PARA QUANTIFICAÇÃO DE ALFA-IONONA E BETA-IONONA POR SMPE

Natália Aguiar Brittes Tinoco^{1,2}, Cláudia Maria Luz Lapa Teixeira²,
Claudia Moraes de Rezende¹

¹Universidade Federal do Rio de Janeiro, Centro Tecnológico, bloco A, laboratório 626a

²Instituto Nacional de Tecnologia- Avenida Venezuela, 82

nataliaabtinoco@gmail.com

Os compostos voláteis derivados de carotenoides estão amplamente distribuídos na natureza e apresentam um elevado potencial aromático sendo de grande interesse para a indústria. Os aromas podem ser extraídos através de diferentes métodos, entre eles a Microextração em Fase Sólida (MEFS, ou SPME, sigla em inglês), uma técnica analítica moderna, isenta de solvente e amplamente empregada nas análises de alimentos, produtos naturais e farmacêuticos. O objetivo deste estudo foi realizar um planejamento experimental para determinar uma condição de extração por SPME que revele de forma mais fidedigna a constituição química dos aromas majoritários (α -ionona e β -ionona) presentes na matriz (suspensão celular da microalga), sem ocasionar a degradação da mesma, uma vez que estes aromas são provenientes da degradação dos carotenoides da microalga *Dunaliella bardawil*. A microalga *D. bardawil* UTEX LB 2538 foi cultivada por 96 horas em meio de cultura Shaish et al. (1992) sem nitrato, a 1,5M de NaCl, agitação orbital de 180rpm, iluminação contínua de 400 μ E.m-2.s-1 e temperatura de 25°C \pm 2 para induzir a carotenogênese. Em seguida, o cultivo foi centrifugado a 3500 rpm, 15°C por 15 minutos, o sobrenadante foi descartado e o pellet celular ressuspenso em água destilada. A suspensão celular permaneceu num período de cinco dias a temperatura de 28°C \pm 2 e no quinto dia foi armazenada em freezer até o momento das análises. O planejamento experimental utilizou os parâmetros de tempo (15, 30 e 45 min.) e temperatura (40, 60 e 80°C) para avaliar o teor de α -ionona e β -ionona, utilizando uma fibra de Divinilbenzeno/Carboxeno em Polidimetilsiloxano (DVB/CX/PDMS). As análises foram realizadas por Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas, com coluna DB-1(30 m; 0,250 mm; 0,25 μ m), a quantificação foi realizada pelo monitoramento seletivo de ions (SIM) da α -ionona e β -ionona. A partir dos resultados obtidos foi possível determinar que nas condições de temperatura e tempo de 30°C/30 min e 40°C/15 min. (n=5), a α -ionona e β -ionona quantificadas apresentaram teores de, 2,34 \pm 0,09 μ g/mL e 12,92 \pm 0,47 μ g/mL, respectivamente. Para as demais temperaturas avaliadas (60°C e 80°C) houve aumento considerável dos teores das substâncias quantificadas, podendo considerar que nestas temperaturas o aumento do teor da α -ionona e β -ionona pode ser decorrente do uso da alta temperatura do processo de extração por SPME. Desta forma, a melhor condição de tempo e temperatura para a quantificação dos aromas majoritários provenientes da degradação dos carotenoides da microalga *D. bardawil* foi de 15 min. em 40°C.

Agradecimentos: CAPES, CNPq, FAPERJ e INT.



DETECÇÃO DE SULFONAMIDAS EM ÁGUAS RESIDUÁRIAS UTILIZANDO MICROEXTRAÇÃO LIQUÍDO-LIQUÍDO e cLC-CS-MS

Adriel M. Lima, Carlos E. D. Nazario, Fernando M. Lanças,
Alvaro J. Santos-Neto

Laboratório de Cromatografia - Instituto de Química de São Carlos - USP
adriel.quimica@gmail.com

São cada vez mais frequentes as notícias sobre poluição ambiental e principalmente fatos relacionados à contaminação da água, tais como, poluição por esgoto doméstico, resíduos industriais e agroquímicos. Uma das maiores dificuldades nas análises de sulfonamidas em matrizes ambientais tais como águas residuárias, baseia-se na complexidade das amostras. As técnicas miniaturizadas de preparo de amostra associadas com a cromatografia líquida capilar (cLC) apresentam várias vantagens em comparação com as técnicas convencionais, como por exemplo, o baixo consumo de amostra e solventes, pouca formação de resíduos, além de poder apresentar maior fator de concentração e maior seletividade na extração dos compostos de interesse. Por causa da redução das dimensões da coluna na cLC isso implica na necessidade de focalização das bandas cromatográficas para evitar-se grande alargamento dos picos e prejuízo à análise cromatográfica, para isso a técnica de acoplamento de colunas “column switching” (CS), que utiliza uma ou mais pré-colunas de comprimento reduzido que interagem com os analitos de interesse, focalizando-os de maneira que não haja uma dispersão significativa e forneça uma maior remoção de interferentes da amostra. A microextração líquido-líquido (LLME) é a miniaturização da tradicional técnica de extração líquido-líquido, que tem como vantagem o baixo consumo de amostra e solvente orgânico. Uma etapa fundamental na LLME é a seleção do solvente orgânico. Algumas propriedades são necessárias para um solvente orgânico ser empregado em LLME, dentre elas: baixa solubilidade ou insolubilidade em água, prevenindo a dissolução da fase orgânica na aquosa (doadora). A adição de sais à matriz pode aumentar a eficiência da extração, particularmente para analitos mais polares, devido ao efeito denominado “salting-out”. Este trabalho teve como objetivo desenvolver um método miniaturizado de extração líquido-líquido das sulfonamidas (sulfadimetoxina, sulfaquinoxalina, sulfacloropiridina, sulfadiazol e sulfametozaxol) em água residuária utilizando cLC-CS-MS. A etapa de LLME foi executada utilizando 7 mL de amostra aquosa (fase doadora), 1 mL de acetato de etila (fase receptora) com 2 mol L⁻¹ de NaH₂PO₄ (salting-out), com 2 min de agitação. A fase orgânica foi coletada, feita a secagem em N₂, ressuspenida em água acidificada e injetada no sistema cLC-CS-MS. Como detector foi utilizado um espectrômetro de massas Micromass Platform. Utilizando esta metodologia foi possível obter o limite de detecção de 0,5 ng mL⁻¹ para as sulfonamidas analisadas, este LD é relativamente baixo considerando que o detector que foi utilizado não possuía a possibilidade de fazer análises no modo MS/MS, o que com certeza reduziria ainda mais o LD. A preocupação da comunidade científica é crescente com a química verde, ou seja, um consumo pequeno de solventes, portanto com a utilização de apenas 1 mL de solvente orgânico neste método desenvolvido de pré-concentração off-line adicionalmente com uma outra pré-concentração online (column switching) foi possível extrair e obter um LD relativamente baixo para os analitos em estudo, a partir de apenas 7 mL de amostra.

Agradecimentos: FAPESP (2010/19910-9) e CNPQ.

AVALIAÇÃO DE TÉCNICAS MINIATURIZADAS NA EXTRAÇÃO DA OXCARBAZEPINA E METABÓLITO EM MEIO MICROSSOMAL

Mariana Zuccherato Bocato¹, Anderson Rodrigo Moraes de Oliveira²

¹Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, USP, SP, Brasil

²Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, USP, SP, Brasil

mzb@fcrfp.usp.br

A Oxcarbazepina (OXC) é um fármaco empregado para o tratamento de convulsões ocasionadas por diversos fatores; após metabolizada forma o metabólito quiral e ativo Licarbazepina (Lic). Três técnicas miniaturizadas de preparação de amostras: SPME, DLLME e HF-LPME foram escolhidas para avaliação da extração da OXC e seu metabólito em matriz microssomal hepática que é amplamente utilizada por possuir a superfamília de enzimas do CYP450 em posteriores estudos de metabolismo in vitro. A SPME é uma técnica de extração com base nas condições de equilíbrio dos analitos após um determinado tempo de contato com a fase extratora polimérica presente nas fibras de extração. A DLLME consiste de uma mistura de um solvente orgânico extrator imiscível na matriz aquosa e outro solvente orgânico de solubilidade mista (solúvel tanto na amostra aquosa quanto no solvente extrator) e que tenha a capacidade de dispersar este solvente extrator na matriz que estão presentes em um tubo de ensaio cônico. Este volume é rapidamente injetado formando gotículas do solvente de extração dispersos na matriz, causando um aumento da área superficial entre o solvente e a matriz aquosa fazendo com que o equilíbrio seja alcançado rapidamente e, por fim a HF-LPME é baseada no uso de uma membrana porosa e cilíndrica feita de polipropileno. Um vial é preenchido com a amostra aquosa de interesse e um pedaço da membrana é mergulhado nessa amostra, sendo suas extremidades ligadas a duas microponteiras. Antes da aplicação, a fibra é mergulhada em um solvente orgânico para imobilizá-lo nos poros da membrana que seja imiscível em água para assegurar sua permanência nos poros durante todo o processo de extração. Assim, os analitos são extraídos da amostra aquosa pela fase orgânica presente nos poros da membrana e transferidos para a solução acceptora presente no interior da membrana. Dentre os parâmetros comuns avaliados nas três técnicas estão: força iônica, pH da matriz, tempo de extração e agitação. Em adição, para SPME, foram: tipo de fibra extratora; para DLLME: tipo e volume dos solventes dispersantes e extratores e, para a HF-LPME foram: tipo de solvente extrator, tipo e concentração da fase acceptora e pH da fase doadora. Todos os parâmetros das três microtécnicas foram avaliados empregando a separação da OXC e Lic em modo normal, utilizando hexano:etanol:isopropanol na proporção de 80:10:10 (v/v/v) com adição de 2% de HAC e uma vazão de 1 mLmin⁻¹. Das três microtécnicas empregadas, somente a HF-LPME não foi capaz de extrair os analitos do meio microssomal e a extração mais efetiva e com maior recuperação obtida (40% para a OXC e 51% para a Lic) foi empregando a técnica da DLLME com solvente dispersor: isopropanol, volume: 400 µL; solvente extrator: clorofórmio, volume: 200 µL; 200 µL de meio microssomal; 2 mL de solução de NaOH 0,1 M centrifugação: 3 minutos a 3000 rpm e temperatura de 20°C.

Agradecimentos: FCFRP, FAPESP, CAPES, CNPQ e Departamento de Química da FFCLRP.



EMPREGO DA MSPD PARA EXTRAÇÃO DE FÁRMACOS DE PEIXES EMPREGANDO DIFERENTES SUPORTES SÓLIDOS

Karina Lotz Soares, Caroline Rombaldi, Gabriel Ianzer Hertzog,
Sergiane Souza Caldas, Ednei Gilberto Primel

*Laboratório de Análise de Compostos Orgânicos e Metais – LACOM;
Escola de Química e Alimentos – EQA, Universidade Federal do Rio Grande – FURG
soaresarinak@hotmail.com*

Os fármacos classificados como contaminantes orgânicos emergentes tornaram-se tópico de discussão ambiental pois estes são capazes de atingir diferentes matrizes do meio ambiente, como água, solo e organismos aquáticos, e estudos demonstrando a toxicidade destes ao meio atraem a atenção. Os peixes, neste sentido são os mais importantes transferidores de compostos presentes no meio aquático para o homem. Neste estudo um método analítico foi otimizado e validado para determinação de amitriptilina, atenolol, carbamazepina, clorpropamida, clortalidona, diclofenaco, diltiazem, enalapril, fluoxetina, flurazepam, furosemida, glibenclamida, nimesulida, propranolol e salbutamol em amostras de peixes (*Mugil liza*) empregando preparo de amostras por dispersão da matriz em fase sólida (MSPD) assistida por vórtex e determinação por cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas (LC-MS/MS). O estudo ainda focou na aplicação de diferentes suportes sólidos na etapa de dispersão da MSPD, sendo que quitina e quitosana foram utilizados pela primeira vez para esta finalidade, O método otimizado foi validado seguindo os parâmetros do INMETRO e SANCO. A curva analítica e linearidade foram avaliados através da calibração externa e superposição na matriz dos quais quatorze dos quinze compostos demonstraram linearidade dentro do recomendado, com coeficiente de correlação maior do que 0,99. Os limites de detecção do método variaram de 1 a 100 ng g⁻¹, e os limites de quantificação a variaram de 5 a 1000 ng g⁻¹. Os valores de recuperação variaram de 68 a 108%, com RSD menores que 13% para todos os compostos. O efeito de matriz foi avaliado, e quatro dos quinze compostos apresentaram efeito maior que ±20%. Na aplicabilidade o método demonstrou ser eficiente para extração de fármacos de diferentes espécies de peixe (*Loricaria anus*, *Micropogonias furnieri*, *Pimelodus pintado* and *Genidens genidens*), apresentando exatidão e precisão adequados.

Agradecimentos: CAPES, FINEP, PETROBRAS, ANP, CORSAN e FURG.

DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO PARA DETERMINAÇÃO DE AGROTÓXICOS EM LODO DE ETA EMPREGANDO GC-MS

Karina L. Soares, Maristela B. R. Cerqueira, Ayrton F. Martins,
Sergiane S. Caldas, Ednei G. Primel

*Laboratório de Análise de Compostos Orgânicos e Metais - LACOM;
Escola de Química e Alimentos - EQA; Universidade Federal do Rio Grande - FURG
soaresanirak@hotmail.com*

A qualidade da água potável disponível no mundo é considerada uma das principais preocupações ambientais, uma vez que água com qualidade e em quantidades adequadas proporcionam melhores condições de vida à população (GROS et al., 2008). No entanto a má qualidade das águas dos rios está exigindo a adição de maiores quantidades de produtos químicos durante o seu tratamento, gerando consequentemente maiores concentrações de resíduos denominados lodo de ETA. Estudos recentes relatam a presença de compostos orgânicos, dentre eles agrotóxicos, no lodo de ETA (Cerqueira et al., 2014). Neste trabalho foi otimizado um método analítico para determinação de agrotóxicos em lodo de ETA empregando Dispersão da Matriz em Fase Sólida (MSPD) e Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (GC-MS). A escolha dos agrotóxicos nesse estudo foi realizada levando em consideração dados da literatura que relatam a presença destes compostos aderidos no lodo. Além disso, foram consideradas as características físico-químicas dos analitos bem como a sua utilização nas culturas agrícolas da região. Foram selecionados, no total, 18 analitos (dicloran, dimetoato, atrazina, clomazona, clorotalonil, fenitrotiona, aldrin, fentiona, clorpirifós, folpete, carboxina, tebuconazol, bifentrina, cialofope butílico, benfuracarbe, fenoxaprope etílico, permetrina, t-flavulinato). No GC-MS, o modo de injeção empregado foi o splitless usando um volume de 2 μL . A programação de temperatura do forno foi realizada com estágios programados entre 100 e 320°C. As temperaturas de injeção e de interface também foram otimizadas e fixadas em 300°C, resultando um tempo total de análise de 18 min. O método proposto apresentou linearidade ($r > 0,99$). Os Limites de Quantificação variaram entre 0,001 e 0,1 $\mu\text{g g}^{-1}$, com recuperações entre 60 e 120% e precisão (RSD) menor que 20% para todos os analitos. O efeito matriz também foi avaliado. Assim, o método proposto mostrou ser eficiente para determinação de 18 agrotóxicos em amostras de lodo de ETA.

Referências:

- GROS, M., PETROVIC, M., BARCELÓ, D. (2008). Analysis of Emerging Contaminants of Municipal and Industrial Origin. *Emerging Contaminants from Industrial and Municipal Waste*, Springer: 37-104.
- CERQUEIRA, M.B., CALDAS, S.S., PRIMEL, E.G. (2014). New sorbent in the dispersive solid phase extraction step of quick, easy, cheap, effective, rugged, and safe for the extraction of organic contaminants in drinking water treatment sludge. *Journal of Chromatography A* 1336: 10-22.

Agradecimentos: FURG, PPGTA, CAPES, CNPq, FAPERGS, FINEP e CORSAN.



DETERMINAÇÃO DE ÁCIDO MONOFLUOROACÉTICO EM PLANTAS TÓXICAS EMPREGANDO HS-SPME-GC-MS/MS

Geovanna Vilalva Freire* (PG), Herlon Souza Sommerfeld (PG), Nilva Ré (PQ)

*Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Instituto de Química,
79080-190, Campo Grande, MS
geo_vfreire@hotmail.com

Plantas que levam à morte súbita representam grande parte das mortes por ingestão de plantas por bovinos, no país. Dentre os princípios tóxicos destas, o ácido monofluoroacético (MFA) tem o maior destaque. Devido as suas propriedades físico-químicas, como fraca absorvância no ultravioleta (UV), alta solubilidade em água, baixa volatilidade, a análise deste composto em matrizes biológicas tornou-se um desafio. As microtécnicas de extração, como a microextração em fase sólida (SPME), além de outros benefícios permite com que ocorra facilmente a extração e a pré-concentração em uma única etapa. Além disso, pode-se recorrer a processos como a derivação. Este tem o intuito de possibilitar que substâncias, como o MFA, possam ter sua estrutura modificada e consequentemente tornar suas propriedades mais adequadas para a análise por cromatografia em fase gasosa e/ou cromatografia líquida com detector de UV. Neste trabalho empregou-se o reagente 1-pirenildiazometano (PDAM), para formação do monofluoroacetato de 1-pirenilmetano, e análise por GC-MS/MS. Para a extração do MFA no headspace (HS) da amostra, empregou-se a microextração em fase sólida (SPME). A derivação ocorreu sobre a fibra de divinilbenzeno/carboxen/polidimetilsiloxano (DVB/CAR/PDMS) 50/30 μm , onde esta foi exposta por 15 minutos a uma solução de PDAM (2,5 mg/mL em hexano) e após foi levada ao headspace da amostra para extração e derivação do MFA. Para estabelecer o procedimento de extração, efetuou-se ensaios variando-se a temperatura de extração, o tempo de extração, força iônica e pH do meio. As análises foram realizadas empregando uma coluna capilar ZB-5MS, 5% fenil-arileno e 95% dimetilpolisiloxano (30 m x 0,25 mm x 0,25 μm). A temperatura inicial da coluna foi de 100 °C por 2 min, e a seguir foi elevada de 100-300 °C com aquecimento de 20 °C/min, permanecendo nessa temperatura por 12 min. A temperatura do injetor foi de 250 °C e da linha de transferência foi de 280 °C. No espectrômetro de massas as temperaturas foram de 200 °C na armadilha de íons e de 70 °C no manifold. O íon molecular do analito foi selecionado para fragmentação no modo não ressonante com corrente de filamento a 20 μA . A recuperação relativa variou de 98 a 110% e o desvio padrão relativo (RSD) de 3 a 28%. O coeficiente correlação (r^2) foi de 0,9960. O limite de detecção foi 0,0025 mg/L e de quantificação 0,006 mg/L. O método mostrou-se sensível e seletivo para a análise de MFA em folhas de *P.marcgravi*, sendo quantificado cerca de $666,36 \pm 34,01$ mg/kg de folhas do composto nesta espécie vegetal. Além disso, permitiu a identificação do analito nas folhas e flores de *A.pubiflora*.

Agradecimentos: CNPq, FUNDECT e UFMS.

DETERMINAÇÃO DE SULFONILURÉIAS EM PLASMA HUMANO EMPREGANDO CLAE COM COLUNAS RAM E DE NÚCLEO FUNDIDO

Juliana V. Ferreira, Gérson A. Pianetti, Christian Fernandes

Laboratório de Controle de Qualidade de Produtos Farmacêuticos e Cosméticos

Faculdade de Farmácia - Universidade Federal de Minas Gerais

juveloso.f@gmail.com

INTRODUÇÃO - o diabetes mellitus é uma das principais causas de morbidade e mortalidade na população, sendo os fármacos da classe das sulfonilureias amplamente utilizados no seu tratamento. Atualmente, sua determinação em matrizes biológicas é realizada por meio de técnicas de preparo de amostras e colunas analíticas convencionais, o que frequentemente leva ao aumento do tempo total da análise e dos erros analíticos. Essas limitações podem ser reduzidas com o uso de colunas com meio de acesso restrito (RAM), que possibilitam a injeção direta de fluidos biológicos nos sistemas cromatográficos. Ademais, o uso de colunas de núcleo fundido, que permitem o emprego de altas vazões de fase móvel, levam à redução do tempo total da análise. **OBJETIVO** - desenvolver metodologia analítica para a determinação simultânea de quatro fármacos da classe das sulfonilureias: clorpropamida, glibenclamida, gliclazida e glimepirida, em plasma humano empregando cromatografia líquida de alta eficiência bidimensional (column switching automatizado com o uso de válvula de seis vias e duas posições), com colunas RAM como fase extratora acoplada à coluna com partículas de núcleo fundido. **MÉTODOS** - a avaliação da eficiência de exclusão das proteínas do plasma humano foi feita comparando-se as áreas dos picos dos cromatogramas (280 nm) das amostras obtidas com a coluna RAM com as áreas obtidas sem a coluna (100%). Foram avaliados os volumes de injeção de 20, 50, 100, 200 e 500 μL de plasma. As condições cromatográficas, como composição e vazão da fase móvel, tempo de viragem da válvula, temperatura do forno e comprimento de onda de detecção na faixa do UV-visível foram otimizadas para o modo de eluição backflush. Ácido flufenâmico foi utilizado como padrão interno (PI). **RESULTADOS E CONCLUSÃO** - as porcentagens de exclusão das proteínas plasmáticas pela coluna RAM para os volumes de injeção de 20, 50, 100, 200 e 500 μL de plasma, foram 100,8%, 105,5%, 106,8%, 104,9 e 104,4%, respectivamente, com um minuto de corrida. Desse modo, definiu-se o tempo de 3 minutos para a análise na coluna RAM, sendo este o tempo de viragem da válvula. A partir de varredura na região espectral de 190 a 800 nm de soluções padrão a 0,1 mg/mL das sulfonilureias avaliadas, foi estabelecido o comprimento de onda de detecção de 230 nm. Após a otimização dos parâmetros cromatográficos, o método foi utilizado nas seguintes condições: coluna RAM-ADS (sílica alquil-diol, 25 x 4 mm), coluna analítica C18 (100 x 4,6 mm, 2,6 μm) contendo partículas de núcleo fundido, fase móvel da etapa de exclusão composta por água e fase móvel da etapa de separação composta por acetonitrila e solução aquosa de ácido acético 1% (50:50) nas vazões de 1,0 mL/min e 1,2 mL/min, respectivamente. A temperatura do forno foi de 35 °C e o volume de injeção de 20 μL . O método desenvolvido e otimizado possibilitou a separação dos quatro fármacos e do PI em plasma humano.

Agradecimentos: FAPEMIG, CAPES e CNPq.



PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE UM SORVENTE DE BAIXA HIDROFOBICIDADE PARA EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA

Augusto S. Novais, Anizio M. Faria*

*Grupo de Pesquisas em Cromatografia, Química/FACIP, campus Pontal,
Universidade Federal de Uberlândia, Ituiutaba, MG
anizio@pontal.ufu.br*

A extração em fase sólida (SPE, solid phase extraction) é uma das principais técnicas de preparação de amostras líquidas que antecede a medida analítica. Os principais sorventes empregados são baseados em organossilanos, como C8 e C18, quimicamente ligados sobre a sílica. Devido a alta hidrofobicidade destes sorventes, algumas substâncias mais hidrofóbicas ficam retidas excessivamente, necessitando de maiores volumes de solventes orgânicos para recuperações mais eficientes dos solutos. Neste trabalho, um sorvente de hidrofobicidade reduzida baseado na imobilização do poli(dimetil-co-alquilsiloxano), PDAS, sobre sílica foi preparado e caracterizado quanto às suas propriedades físico-químicas e de retenção. O PDAS apresenta intercalados em sua unidade monomérica uma cadeia longa (C18) e uma cadeia curta (C1) que reduz a hidrofobicidade da fase, se comparada com fases tradicionais. A preparação da fase foi realizada pela imobilização térmica do PDAS a 110 °C por 12h (condições otimizadas) sobre partículas esféricas de sílica de 40 a 70 µm de diâmetro. As partículas foram caracterizadas físico-quimicamente por RMN de ²⁹Si, espectroscopia de infravermelho, análise elementar e análise termogravimétrica. Estudos cinéticos foram realizados para verificar as características de retenção da fase sólida empregando como soluto teste o propranolol, um fármaco betabloqueador. A fase Si(PDAS) apresentou uma camada polimérica contendo 12,10% de carbono adsorvida sobre a sílica, sem a formação de ligações químicas. Com relação às características de retenção, as moléculas de solutos são retidas na fase sólida na forma de multicamadas, sendo que cada camada retém cerca de 6,64 mg para o soluto analisado, enquanto que a fase sólida C18 convencional retém 12,71 mg do mesmo soluto. O sorvente Si(PDAS) foi avaliado quanto à possibilidade de reutilização, não apresentando efeito “carryover” para a mistura teste avaliada após o uso em extrações sequenciais. Esta viabilidade de reuso dos cartuchos pode estar associada ao fato de que a imobilização polimérica resulta em melhor recobrimento da superfície da sílica, evitando interações indesejáveis de componentes da amostra com o suporte. Em suma, o sorvente Si(PDAS) apresenta potencial para ser empregado em processos de extração em fase sólida, principalmente na extração de substâncias de forte retenção, pois necessitará de volumes reduzidos de solventes orgânicos para obtenção de altas recuperações de solutos altamente hidrofóbicos.

Agradecimentos: FAPEMIG, CNPq, RQ-MG, PROPP/UFU.

SÍNTESE DO SORVENTE MONOLÍTICO HÍBRIDO (SÍLICA) PARA ANÁLISES MEPS/LC-MS/MS DE FÁRMACOS EM PLASMA

Israel D. Souza, Diego S. Domingues, Maria E. C. Queiroz

Departamento de Química, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto

Universidade de São Paulo

**israeldsz@usp.br*

As fases monolíticas híbridas de sílica apresentam uma estrutura tridimensional contínua constituída de macroporos e mesoporos que lhe conferem alta permeabilidade e excelente capacidade sortiva^[1]. Além disso, apresentam boa estabilidade mecânica, química e alta biocompatibilidade com amostras biológicas. Tais características justificam o sucesso no uso deste material como sorvente nas técnicas miniaturizadas de preparo de amostra para a extração e preconcentração de diversos analitos. Microextração em seringa empacotada (MEPS) é uma recente técnica de preparo de amostra considerada a miniaturização do sistema SPE convencional^[2]. Apresenta como vantagens a possibilidade de automação dos sistemas analíticos, baixo consumo de solventes orgânicos e usa pequeno volume de amostra biológicas. Nesta técnica, a extração, preconcentração e eluição/injeção dos analitos podem ser integradas em uma única etapa, reduzindo o tempo da análise e aumentando a precisão analítica. Por estas razões, MEPS se tornou uma técnica atrativa no estudo de fármacos em fluidos biológicos por cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas em tandem (LC-MS/MS). Neste trabalho, um monolito híbrido orgânico-inorgânico de sílica contendo grupos cianopropil incorporados foi sintetizado pelo processo sol-gel, caracterizado por microscopia eletrônica de varredura (MEV) e espectroscopia vibracional no infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR). Esta fase monolítica foi empregada como sorvente MEPS. Utilizando este sistema, 16 fármacos, comumente ministrados no tratamento da esquizofrenia, foram seletivamente isolados de amostras de plasma de pacientes e analisados por MEPS/LC-MS/MS. Para esta quantificação 200 uL de plasma foram diluídos com solução acetato de amônio 5 mM (acertado a pH 10 com hidróxido de amônio). As condições MEPS otimizadas foram as seguintes: condicionamento do sorvente com metanol (4x200 uL) e água (4x200 uL), pré-concentração da amostra diluída (4x100 uL), limpeza do sorvente com água (1x150 uL) e eluição dos fármacos com 100 uL da solução de acetonitrila/metanol (50:50 v/v). Esta solução foi seca sob fluxo de nitrogênio e ressuspensa em 50 uL de fase móvel constituída de A (acetato de amônio 5 mmol/L + 0,1 % de ácido fórmico) e B (acetonitrila), 90:10 v/v. A separação cromatográfica foi realizada em coluna analítica XSelect® CSH C18 (2,5µm, 2,1x100mm) com eluição por gradiente. A metodologia apresentou linearidade adequada para a quantificação dos fármacos em seus respectivos intervalos terapêuticos, limites inferiores de quantificação que variaram de 50 a 500 pg/mL e precisão inter e intra-ensaios com coeficientes de variação menores que 15 %.

Referências bibliográficas

- [1] J. Ou, H. Lin, Z. Zhang, G. Huang, J. Dong, H. Zou, *Electrophoresis* 34 (2013) 126.
- [2] M. Abdel-Rehim, *Anal Chim Acta* 701 (2011) 119.

Agradecimentos: Fapesp (processo 2012/10705-9) e Capes pelo suporte financeiro.

DETERMINAÇÃO DE FÁRMACOS EM AMOSTRAS DE PLASMA POR DPX(C18-BSA) / LC-MS/MS

Mônia Ap. Lemos Pinto (PG)^{1*}, Diego S. Domingues (PG)², Maria E. C. Queiroz (PQ)²

FCFRP¹ - Av. do Café, s/nº - FFCLRP² - Bandeirantes, 3900

Univerdidade de São Paulo - Ribeirão Preto - SP - Brasil

**monialemos@usp.br*

Nos últimos anos, a cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas em tandem com ionização por electrospray (LC-MS/MS) tem se tornado a técnica analítica de referência para análise de fármacos em fluidos biológicos. No entanto, em virtude da complexidade dos fluidos biológicos, estes não podem ser introduzidos em seu estado fisiológico em sistemas de LC-MS/MS, pois apresentam interferentes, principalmente proteínas que podem suprimir a ionização dos analitos. As fases estacionárias de material de acesso restrito (RAM) combinam os princípios da cromatografia de exclusão e de fase reversa, uma vez que sua superfície hidrofílica impede a adsorção de macromoléculas da amostra biológica na fase estacionária e suas propriedades hidrofóbicas são responsáveis pela retenção das micromoléculas (fármacos)^[1]. A técnica de DPX (Disposable pipette extraction), baseada no equilíbrio de sorção do soluto com a fase extratora, consiste em uma ponteira padrão de micropipeta (1 ou 5 ml) modificada, na qual o sorvente está contido livremente entre dois filtros, permitindo rápida extração de solutos a partir de diferentes matrizes complexas^[2]. Neste trabalho, fase extratora de material de acesso restrito (RAM) com partículas octadecilsilano revestidas com albumina sérica bovina foi desenvolvida e empregada, em conjunto com a técnica de extração por DPX, para a pré-concentração dos fármacos e exclusão dos componentes endógenos da amostra de plasma. As variáveis DPX (pH e volume da amostra, tempo de equilíbrio de sorção, condições de dessorção e limpeza do sorvente) foram avaliadas. Para as análises LC-MS/MS utilizou-se um sistema UPLC Waters acoplado ao espectrômetro de massas Xevo® TQ-D com analisador de massas do tipo triplo quadrupolo com monitoramento de reações múltiplas em modo positivo. 10 µL do extrato obtido foram injetados na coluna analítica XSelect® e os fármacos foram separados com eluição por gradiente com solução de acetato de amônio 5mM + 0,1% de ácido fórmico. Com base nos resultados experimentais obtidos, as melhores condições entre as investigadas para o processo de extração por DPX com fase extratora RAM (C18-BSA) foram as seguintes: 200 µL de amostra de plasma diluídos em 200 µL de solução tampão fosfato 0,05 M (pH=7,4), tempo de equilíbrio de sorção: 4 min, dessorção: 500 µL de metanol e lavagem do sorvente: 250 µL de solução de ácido acético (1%) e 250 µL de solução água/metanol (95:5v/v). O método desenvolvido apresentou limites inferiores de quantificação inferiores aos intervalos terapêuticos preconizados.

Referências:

[1] W.M. Mullett, J. Biochem. Biophys. Methods 70 (2007) 263.

[2] D.C. Mozaner Bordin, M.N.R. Alves, O.G. Cabrices, E.G. de Campos, B.S. De Martinis, J. Anal. Toxicol. 38 (2013) 31.

Agradecimentos: À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo - FAPESP, pelo suporte financeiro.

DESENVOLVIMENTO DE MIP PARA ANÁLISES (SPE/UPLC-MS/MS) DE VENLAFAXINA EM AMOSTRAS DE PLASMA

Luis Felipe C. Miranda, Maria Eugênia Costa Queiroz

Departamento de Química da FFCLRP, Universidade de São Paulo,

Av. Bandeirantes, 3900 - 14040-901

luisfelipe.c22@usp.br

A venlafaxina (VEN), em razão de sua eficácia e brandos efeitos adversos, tem sido um dos antidepressivos mais prescritos no tratamento da depressão e ansiedade. Junto com seu metabólito ativo O-desmetilvenlafaxina (ODV) são inibidores seletivos da recaptação de serotonina e noradrenalina[1]. Em métodos bioanalíticos, o preparo da amostra tem sido requerido para aumentar a seletividade e sensibilidade analítica, através da remoção dos interferentes da amostra biológica e concentração dos fármacos, quase sempre presentes em níveis de traços. Os polímeros de impressão molecular (MIP) têm se destacado como fase estacionária para extração em fase sólida (SPE). Os MIPs são materiais sintéticos com sítios de reconhecimento molecular capazes de extrair seletivamente a molécula-alvo ou outras substâncias com estrutura análoga. Neste trabalho, a fase MIP foi sintetizada para extração (SPE) de VEN, ODV e N-desmetil venlafaxina em amostras de plasma e análises por UPLC-MS/MS. A fase MIP foi sintetizada por polimerização radicalar a partir de uma mistura ácido metacrílico (monômero funcional), VEN (molécula molde), etilenoglicol dimetacrilato (reticulante) e 2,2 azobisisobutironitrila (iniciador radicalar) em tolueno (porogênico). O polímero resultante foi submetido a um processo de lavagem para remoção do molde. Para controle utilizou-se o polímero não impresso (NIP), sintetizado pelo mesmo procedimento, porém sem o uso da molécula molde. Filtros na forma de microdiscos (celulose regenerada) recheados com 8 mg de MIP foram utilizados como dispositivo para extração SPE, nas seguintes condições: 100 µL de amostra de plasma diluída com solução tampão fosfato (pH 8), 200 µL ác. acético (0,1%) e 100 µL de metanol (10%) para limpeza do sorvente e eluição dos fármacos com 300 µL de metanol. A seletividade da fase MIP para extração dos fármacos foi comprovada pelas taxas de recuperação MIP (84%) e NIP (50%). A análises cromatográficas foram realizadas em sistema UPLC-MS-MS empregando coluna Kinetex C18 e fase móvel composta por solução acetato de amônio (30 mM pH = 8) e acetonitrila (ACN) com eluição por gradiente. A próxima etapa deste trabalho será a validação analítica do método proposto. Keywords: venlafaxine, molecularly imprinted polymers.

Agradecimentos: FAPESP.



SÍNTESE DO POLÍMERO MOLECULARMENTE IMPRESSO PARA EXTRAÇÃO E ANÁLISE DE BISFENOL A POR DPX/GC-MS

Tamires Amabile Valim¹; Maria Eugênia Queiroz Nassur²

¹FCFRP-USP - Av. do Café, s/nº - Ribeirão Preto - SP;

²Departamento de Química - FFCLRP - USP - Av. Bandeirantes, 3900 - Ribeirão Preto - SP

tamiresvalim@usp.br; mariaeqn@ffclrp.usp.br

O Bisfenol A (BPA) é uma substância utilizada na fabricação de embalagens alimentícias e resinas odontológicas. Sua toxicidade deve-se ao fato de que, como disruptor endócrino, afeta o sistema reprodutor, cardiovascular, neuro-endócrino e pode apresentar potencial carcinogênico. Em métodos bioanalíticos, o preparo da amostra tem sido requerido para aumentar a seletividade e sensibilidade analítica, através da remoção dos interferentes da amostra biológica e concentração dos analitos, quase sempre presentes em níveis de traços. A técnica de DPX (Disposable pipette extraction), baseada no equilíbrio de sorção do soluto com a fase extratora, consiste em uma ponteira padrão de micropipeta modificada, na qual o sorvente está contido livremente entre dois filtros, permitindo rápida extração do analito a partir de diferentes matrizes complexas. Os polímeros de impressão molecular (MIP) consistem em uma rede polimérica tridimensional que possui cavidades seletivas para o reconhecimento molecular do analito ou de substâncias de estrutura análoga. Essa rede polimérica é sintetizada ao redor da molécula molde (analito), e a cavidade seletiva é formada após a remoção do molde. As vantagens da via sol-gel para a síntese do MIP são o controle do tamanho e forma das partículas, ajuste da hidrofobicidade e alta estabilidade térmica. Neste trabalho, a fase MIP foi sintetizada para extração de bisfenol A em amostras de urina e de saliva, empregando a técnica DPX e análise por cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS). Para a síntese do MIP, a sílica-gel ativada foi utilizada como suporte para os grupos orgânicos, devido suas características de resistência térmica, resistência a acidez e ao intumescimento e alta taxa de transferência de massas. A síntese foi realizada com a molécula molde (BPA), metanol (agente porogênico), 3-aminopropiltrióxissilano (APTS, monômero funcional), tetraetilortossilicato (TEOS), sílica-gel ativada e ácido acético. O polímero não impresso (NIP) foi sintetizado seguindo o mesmo procedimento, porém, sem adição da molécula molde. Para análises GC-MS, o BPA foi derivatizado com BSTFA + TMCS por 30 min a 60°C. Após derivatização o BPA foi analisado por GC-MS nas seguintes condições cromatográficas: Temperatura de Injeção: 280°C; Fluxo de gás na coluna: 1mL/min.; Temperatura da Coluna: 180°C (3 min) - 20°C/min - 240°C (4 min) - 20°C/min - 300°C (2 min). As condições do espectrômetro de massas são: temperatura da fonte de íons: 230°C; temperatura de Interface: 250°C; o íon escolhido para a quantificação do BPA foi o de massa 357, e para o padrão interno (Bisfenol A deuterado) foi o de massa 368. O MIP desenvolvido apresentou seletividade para a extração de BPA em amostras biológicas. Nas próximas etapas do trabalho, as variáveis da técnica DPX serão otimizadas e o método desenvolvido será validado segundo normas da ANVISA.

Agradeço a FAPESP (2013/21532-0) pelo apoio e auxílio financeiro concedido.

OTIMIZAÇÃO DA DLLME PARA DETERMINAÇÃO SIMULTÂNEA DE AGROTÓXICOS E PPCPS EM AMOSTRAS DE ÁGUA

Elisane O. Santos*, Liziane C. Marube, Sergiane S.Caldas,
Karina L.Souares, Ednei Gilberto Primel

*Laboratório de Análise de Compostos Orgânicos e Metais – LACOM;
Escola de Química e Alimentos – EQA, Universidade Federal do Rio Grande – FURG
liziane_cardoso_20@yahoo.com.br*

Classificados como contaminantes emergentes, os fármacos e os produtos de cuidado pessoais (PPCPs) têm recebido atenção crescente nas últimas décadas, devido a possíveis ameaças para o ambiente aquático e para a saúde humana^[1,2]. Além destes, os agrotóxicos também merecem atenção especial, visto que assim como os PPCPs, os agrotóxicos constituem uma mistura complexa de substâncias químicas que podem ser detectados em amostras de águas^[3]. Esses compostos tem sido frequentemente detectados em todo o mundo na concentração em µg/L a ng/L^[3], o que demanda além de uma extração eficiente, uma etapa de pré-concentração. Dentro deste contexto, se destaca a DLLME - SFO que é amplamente aplicada para determinação de compostos orgânicos em amostras aquosas, no entanto, esta técnica nunca foi aplicada para a análise simultânea de agrotóxicos e PPCPs em amostras de águas. O objetivo deste trabalho foi a otimização de um método para extração de agrotóxicos e PPCPs em amostras de água utilizando a técnica DLLME-SFO seguida por determinação por cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas sequencial com fonte de ionização por eletrospray (LC-ESI-MS/MS). Os fatores que afetam a eficiência da extração, tais como o tipo e o volume de solvente extrator e dispersor, efeito do sal e pH da amostra foram otimizados. As condições de extração, após otimização foram: 10 mL de amostra pH 2, 100 µL 1-dodecanol e 500 µL de metanol. Após a injeção na amostra da mistura do solvente extrator e dispersor, a mistura foi centrifugada por 5 min à 4000 rpm. O método proposto apresentou linearidade ($r > 0,99$). Os limites de quantificação variaram entre 10 a 500 ng/L, com recuperações entre 63-110% e precisão (RSD) entre 0,5-15% para todos os analitos. Assim, o método proposto mostrou ser eficiente para determinação de 17 agrotóxicos e 9 PPCPs em amostras de água.

Referências:

1. Bu Q, Wang B, Huang J, Deng S, Yu G (2013) Pharmaceuticals and personal care products in the aquatic environment in China: A review. *Journal of hazardous materials* 262:189-211.
2. Liu J-L, Wong M-H (2013) Pharmaceuticals and personal care products (PPCPs): A review on environmental contamination in China. *Environment international* 59:208-224.
3. Delgado A, Posada-Ureta O, Olivares M, Vallejo A, Etxebarria N (2013) Silicone rod extraction followed by liquid desorption-large volume injection-programmable temperature vaporiser-gas chromatography-mass spectrometry for trace analysis of priority organic pollutants in environmental water samples. *Talanta* 117:471-482.

Agradecimentos: CAPES, CNPq, FAPERGS, FURG.



DETECTION OF COFFEE ADULTERATION BY SOLID-PHASE MICROEXTRACTION USING POLYMERIC IONIC LIQUIDS

Bruna R. Toledo, Leandro W. Hantao, Tien D. Ho, Fabio Augusto, Jared L. Anderson

Institute of Chemistry, University of Campinas, Campinas SP 13084-970 Brazil

Department of Chemistry, The University of Toledo, Toledo OH 43606 USA

bruna.sampaio@iqm.unicamp.br

One of the best approaches to mitigating artifacts and interferences introduced through sample manipulation is by employing non-intrusive sampling techniques, such as solid-phase microextraction (SPME). SPME has been a popular sample preparation method for the study of fragrance and aroma composition as it combines analyte isolation and pre-concentration into one step. The types of sorbent coatings available commercially currently limit the applicability of SPME. Consequently, this may hinder the analytical performance of the method and result in a deficiency of critical information needed for chemometric data analysis. In an effort to overcome the shortcomings of commercial SPME sorbent coatings and broaden the types of analytes/matrices that can be examined, polymeric ionic liquids (PILs) can be exploited as contemporary sorbent coatings. Compared to traditional molecular polymers, it is possible to alter the chemical composition of PILs to exhibit varying selectivities, high thermal stability, and low sorbent bleed during thermal desorption at high temperatures. In this study, cross-linked PIL-based sorbent coatings were used to extract volatile aroma-related compounds from coffee samples. Several PIL-based coatings were screened alongside a commercial poly(acrylate) (PA) SPME coating. The best performing PIL-based SPME fiber, poly(1-vinyl-3-hexadecylimidazolium bis[(trifluoromethyl) sulfonylimide]) with 50% (w/w) 1,12-di(3-vinylbenzylimidazolium)dodecane dibis[(trifluoromethyl) sulfonyl]imide incorporated cross-linker, was used to isolate the volatile fraction of Arabica coffee. To illustrate the importance of trace analyte isolation, a method for the detection and quantification of coffee adulteration is described. Chromatographic profiles obtained by gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS) were used to create the chemometric model. Partial least squares (PLS) regression was employed to correlate the aroma-related chemical fingerprint to the degree of adulteration. The proposed method successfully detected fraud down to 1% (w/w) of adulterant and accurately determined the degree of coffee adulteration (i.e., root mean square error of calibration and prediction of 0.54% and 0.83% (w/w), respectively). Finally, important aroma-related compounds including furans, methoxyphenols, pyrazines, and ketones were identified.

Agradecimentos: FAPESP, CAPES, CNPq, University of Toledo.

DETERMINAÇÃO SIMULTÂNEA DE FÁRMACOS ANTIDIABÉTICOS ORAIS EM PLASMA HUMANO EMPREGANDO MEPS E HPLC-UV

Iara Maíra de O. Viana; Paula de P. R. Lima;
Cristina D. V. Soares; Christian Fernandes

*Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais.
Av. Pres. Antônio Carlos 6627, Pampulha - Belo Horizonte/MG, CEP 31270-901
cfernandes@farmacia.ufmg.br*

A diabetes mellitus é uma doença crônica que possui alta e crescente prevalência no mundo. Durante seu tratamento, medicamentos de uso oral são usualmente utilizados para o controle da glicemia dos pacientes. Uma das classes de fármacos antidiabéticos orais mais empregadas é a das sulfoniluréias. A determinação de fármacos em amostras biológicas é fundamental na avaliação do comportamento de um novo fármaco no organismo, na monitorização terapêutica, em estudos farmacocinéticos e em estudos de bioequivalência. No entanto, a análise de fármacos e seus metabólitos em amostras biológicas (como plasma e urina) apresenta algumas dificuldades devido à grande complexidade dessas matrizes. Inicialmente, é necessário o preparo da amostra visando a extração dos analitos e a retirada das substâncias interferentes. Essa etapa inicial corresponde à etapa mais demorada e que é responsável pela maior parte dos erros gerados durante uma análise. Por isso, atualmente novas técnicas tem sido desenvolvidas. A microextração em sorvente empacotado (MEPS) é uma técnica capaz de extrair fármacos presentes em matrizes biológicas com alta eficiência, mesmo utilizando menores volumes de amostras e solventes do que as técnicas convencionais. Nesse estudo, um método simples e rápido empregando MEPS e cromatografia líquida de alta eficiência com detecção no ultravioleta (HPLC-UV) para a determinação simultânea de três fármacos antidiabéticos orais (clorpropamida, gliclazida e glimepirida) em plasma humano foi desenvolvido e validado. A glibenclamida, outra sulfonilureia, foi utilizada como padrão interno. Planejamento fatorial fracionário e planejamento fatorial completo foram aplicados para avaliar os parâmetros que afetam as etapas de extração e dessorção, respectivamente. Todos os parâmetros na etapa de extração (pH, volume da amostra, diluição da amostra e número de ciclos de aspiração/ejeção) e na etapa de dessorção (porcentagem de acetonitrila no solvente de eluição e números de ciclos de aspiração do solvente de eluição através do cartucho) foram estatisticamente significativos ($p < 0,05$) quando recuperação foi usada como resposta. O método desenvolvido permitiu o uso de pequenos volumes de amostra e solventes. Além disso, separação rápida e eficiente dos fármacos foi possível pelo uso de coluna com partículas de núcleo fundido (apenas 2,2 min foram necessários). A validação foi executada conforme a RDC 27/2012. A recuperação dos fármacos foi satisfatória e o método apresentou adequada sensibilidade. O método também mostrou seletividade, precisão, exatidão e linearidade na faixa de 1.0-50.0 $\mu\text{g mL}^{-1}$ para clorpropamida, 1.0-10.0 $\mu\text{g mL}^{-1}$ para gliclazida e 0.1-1.0 $\mu\text{g mL}^{-1}$ para glimepirida. Finalmente, o método validado foi aplicado em análises de amostras reais de plasma humano contendo os três analitos testados.

Agradecimentos: À FAPEMIG, CAPES e PRPq/UFMG pelo apoio financeiro.



AVALIAÇÃO DO POLI(ÁCIDO METACRÍLICO) SINTETIZADO EM FIBRA PARA DETERMINAÇÃO DE CARVEDILOL

Silva, A. T. M.¹; Fonseca, M. C.¹; Oliveira, H. L.¹; Silva, R. C. S.¹;
Mano, V.¹; Figueiredo, E. C.²; Borges, K. B.¹

¹Laboratório de Química Analítica, Universidade Federal de São João del-Rei

²Laboratório de Toxicantes e Fármacos, Universidade Federal de Alfenas

keyller@ufsj.edu.br

Nos últimos anos houve um aumento no número de análises de vários tipos de substâncias em fluidos biológicos, porém as técnicas convencionais de preparo de amostra consomem elevado volume de solvente, com isso técnicas minituarizadas vem sendo empregadas. Neste contexto, foi desenvolvida a microextração em fase sólida, que utiliza pouco solvente, empregando uma fibra sintetizada a partir de polímeros molecularmente impressos (MIPs) de carvedilol, com o intuito de obter fibras mais seletivas. O carvedilol (CAR) é um agente hipotensor não seletivo dos receptores β -adrenérgicos, que diminuem os batimentos cardíacos, e dos receptores α -adrenérgicos, que promovem a diminuição da resistência vascular periférica. A síntese do MIP foi realizada utilizando 0,4 mmol de ácido metacrílico (monômero funcional), 2 mmol de etilenoglicol dimetacrilato (agente de ligação cruzada), 0,03 mmol de 2,2'-azo-bis-iso-butironitrila (iniciador radicalar) e 0,1 mmol de CAR (molécula molde). Todos os reagentes foram solubilizados em 1 mL de clorofórmio, 100 μ L de acetonitrila e 100 μ L de metanol formando a solução de polimerização que foi sonicada e colocada sob fluxo de nitrogênio por 5 minutos. A solução foi colocada dentro de tubos capilares com 0,53 mm de diâmetro para a formação do MIP em formato de fibra e deixado em banho-maria à 80°C por 24 horas. Ao fim da polimerização, o MIP é lavado para retirada da molécula molde, com solução de metanol e ácido acético (9: 1, v/v), o resíduo de lavagem foi analisado por espectrometria de UV-Vis, até que o CAR não fosse mais detectado. O polímero não impresso (NIP) foi sintetizado da mesma maneira que o MIP, mas sem a molécula molde. Após lavagem, o material foi caracterizado por espectrometria de infravermelho (FT-IR), análise termogravimétrica (TGA), calorimetria exploratória diferencial (DSC) e microscopia eletrônica de varredura (MEV). Para FT-IR, foi possível observar bandas em 1649 cm^{-1} , característica de carbonos com hibridização sp^2 , a qual acredita-se que seja proveniente de insaturações nos reagentes que não foram consumidos. Além disso, bandas características de carbonila, em 1729 cm^{-1} , O-H, em 3563 cm^{-1} e C-O em 1264 cm^{-1} e 1160 cm^{-1} também foram observadas tanto no MIP quanto no NIP. Na TGA, a qual apresenta o comportamento do material em alta temperatura. Foi possível observar que em torno de 300°C começa a decomposição do material, uma temperatura relativamente elevada que permite concluir que o polímero possui uma estrutura estável. O MIP desenvolvido nessas condições juntamente com a técnica de SPME mostrou-se promissor para a extração seletiva de CAR em matrizes complexas

Agradecimentos: CNPq, FAPEMIG, CAPES e Rede Mineira de Química.

SÍNTESE NÃO-COVALENTE E CARACTERIZAÇÃO DE UM POLÍMERO DE IMPRESSÃO MOLECULAR PARA TRAMADOL

Fonseca, M. C.¹; Silva, A. T. M.¹; Oliveira, H. L.¹; Silva, R. C. S.¹;
Mano, V.¹; Figueiredo, E. C.²; Borges, K. B.¹

¹Laboratório de Química Analítica, Universidade Federal de São João del-Rei

²Laboratório de Toxicantes e Fármacos, Universidade Federal de Alfenas

keyller@ufsj.edu.br

Os polímeros de impressão molecular (MIP) podem ser descritos como a tentativa de se reproduzir em laboratório fases estacionárias de extração em fase sólida altamente seletivas, comparáveis a alta seletividade de moléculas biológicas, como as enzimas. A alta seletividade dos MIP é observada devido à presença da molécula alvo na síntese do polímero, que deve ser retirada posteriormente, deixando livre a cavidade seletiva formada durante a polimerização. Durante a síntese do polímero, é formado um complexo [monômero funcional + molécula molde] seguido da formação da matriz polimérica. O MIP foi sintetizado para o fármaco tramadol (TRM), um analgésico sintético que apresenta um mecanismo de inibição de dor semelhante ao da morfina. Como outros fármacos utilizados para alívio de dor, o TRM pode ser abusado. Uma vez sintetizado, o polímero deve ser lavado adequadamente para a retirada da molécula molde. Neste estudo, foram utilizados 4 mmol de ácido metacrílico (monômero funcional), 20 mmol de etilenoglicol dimetacrilato (agente de ligação cruzada), 0,3 mmol de 2,2'-azo-bis-iso-butironitrila (iniciador radicalar) e 1 mmol de TRM (molécula molde). Todos os reagentes foram solubilizados em 10 mL de acetonitrila formando um solução que foi sonicada e colocada sob fluxo de nitrogênio por 10 minutos. A solução permaneceu em banho de 80°C por 24h. Após este período, o polímero foi lavado diversas vezes com solução metanol: ácido acético (9: 1, v/v), e o resíduo de lavagem analisado por UV-Vis até que não fosse observada a presença de TRM. De modo análogo, foi sintetizado o NIP (polímero não impresso), apenas sem a presença da TRM. Com o objetivo de caracterizar o polímero, o espectro de infravermelho (FT-IR) foi obtido, sendo possível observar bandas em 1649 cm⁻¹, característica de carbonos com hibridização sp², a qual acredita-se que seja proveniente de insaturações nos reagentes que não foram consumidos. Além disso, bandas características de carbonila, em 1729 cm⁻¹, O-H, em 3563 cm⁻¹ e C-O em 1264 cm⁻¹ e 1160 cm⁻¹ também foram obtidas. Na análise termogravimétrica (TGA), a qual apresenta o comportamento do material em alta temperatura. Foi possível observar que entre 250°C e 300°C começa a decomposição do material, uma temperatura relativamente elevada que permite concluir que o polímero possui uma estrutura bem rígida e definida. O NIP apresentou pequenas diferenças, sendo que este começa a se decompor em temperaturas um pouco maiores. Isso pode ser explicado devido à ausência de molécula molde na síntese do NIP, o que resulta em um material menos poroso, conseqüentemente uma estrutura mais densa e de maior rigidez. O poli(ácido metacrílico) mostrou ser promissor na adsorção de TRM. Estudos estão sendo realizados visando o desenvolvimento de um método de pré-concentração para determinação de TRM por HPLC em fluidos biológicos.

Agradecimentos: CNPq, FAPEMIG, CAPES e Rede Mineira de Química.



MICRO-SPE EMPREGANDO POLÍMERO MOLECULARMENTE IMPRESSO PARA EXTRAÇÃO SELETIVA DE CETOCONAZOL

Silva, R. C. S.¹; Silva, A. T. M.¹; Fonseca, M. C.¹; Oliveira, H. L.¹;
Mano, V.¹; Figueiredo, E. C.²; Borges, K. B.¹

¹Laboratório de Química Analítica, Universidade Federal de São João del-Rei

²Laboratório de Toxicantes e Fármacos, Universidade Federal de Alfenas

keyller@ufsj.edu.br

A complexidade dos fluidos biológicos e a baixa concentração de fármacos nestas matrizes tem levado a investigação e desenvolvimento de novas técnicas de preparo de amostras. Apesar da grande aceitação da técnica de extração em fase sólida (SPE) no preparo de amostra há uma limitação das fases estacionárias no que se diz respeito à extração de analitos alvos. Assim, há um interesse considerável no desenvolvimento de novos materiais com elevada capacidade seletiva aplicável a uma ampla variedade de matrizes e analitos. Nesse contexto os polímeros molecularmente impressos (MIPs) têm se destacado como material adsorvente seletivo utilizado na SPE. O cetoconazol (CETO) é um antifúngico pertencente à classe dos imidazóis, sendo um inibidor de esterol nos fungos e com larga aplicação. A determinação enantiosseletiva do CETO tem grande importância na área clínica e até o presente momento não há dados disponíveis sobre a síntese e caracterização de um MIP que possa ser utilizado como preparo de amostras em procedimentos de μ -SPE. Depois de otimizada a síntese, foram utilizados 4 mmol de ácido metacrílico (monômero funcional), 20 mmol de etilenoglicol dimetacrilato (agente de ligação cruzada), 0,3 mmol de 2,2'-azo-bis-iso-butironitrila (iniciador radicalar) e 1 mmol de CETO (molécula molde). Todos os reagentes foram solubilizados em 10 mL de acetonitrila: metanol (9: 1, v/v) formando um solução de polimerização que foi sonicada e colocada sob fluxo de nitrogênio por 10 minutos. A solução permaneceu em banho de 80°C por 24 h. Após este período, o polímero foi lavado diversas vezes com solução metanol: ácido acético (9: 1, v/v) e o resíduo de lavagem analisado por UV-Vis, até que não fosse observada a presença de CETO. De modo análogo, foi sintetizado o polímero não impresso (NIP), apenas sem a presença da molécula molde. Os polímeros foram caracterizados por análise termogravimétrica (TGA), por espectroscopia de infravermelho (FT-IR), calorimetria exploratória diferencial (DSC) e microscopia eletrônica de varredura (MEV). Para FT-IR, foi possível observar bandas em 1649 cm^{-1} , característica de carbonos com hibridização sp^2 , a qual acredita-se que seja proveniente de insaturações nos reagentes que não foram consumidos. Além disso, bandas características de carbonila, em 1729 cm^{-1} , O-H, em 3563 cm^{-1} e C-O em 1264 cm^{-1} e 1160 cm^{-1} também foram observadas tanto no MIP quanto no NIP. Por DTGA foi possível observar que a partir de 425 °C iniciou-se a decomposição do MIP e do NIP, uma temperatura relativamente elevada que permite concluir que o polímero possui uma estrutura termicamente estável mesmo em altas temperaturas. O MIP desenvolvido nessas condições juntamente com a técnica de μ -SPE mostrou ser promissor para a extração seletiva de CETO em matrizes complexas.

Agradecimentos: CNPq, FAPEMIG, CAPES e Rede Mineira de Química.

FILTROS DE CIGARROS COMO ADSORVENTE EM μ -SPE PARA A EXTRAÇÃO DE CETOCONAZOL EM URINA

Teixeira, R. A.; Silva, R. C. S.; Pereira, A. C., Borges, K. B.

*Laboratório de Química Analítica, Universidade Federal de São João del-Rei
keyller@ufsj.edu.br*

A extração em fase sólida (SPE) empregando materiais comerciais como C8, C18, resinas de troca iônica tem sido amplamente utilizada para o pré-tratamento de amostras. Contudo, quando comparada a técnicas miniaturizadas, há um elevado consumo de solventes, tempo e material adsorvente. Assim, uma das vertentes das pesquisas atuais tem sido o desenvolvimento de novos procedimentos analíticos condizentes com a química verde e aplicação de materiais adsorventes de baixo custo, fácil disponibilidade e boa eficiência de extração para o preparo de amostra. Recentemente, os filtros de cigarros (FCs) tem sido utilizados com sucesso como material adsorvente para a pré-concentração e separação de analitos na SPE, porém, não há estudos do seu potencial adsorvente quando aplicado como material de recheio em preparo de amostras miniaturizados como a μ -SPE. O cetoconazol (CETO) é um antifúngico pertencente à classe dos imidazóis, sendo um inibidor de esterol nos fungos e com larga aplicação clínica. O CETO é um fármaco quiral administrado clinicamente como uma mistura racêmica (1:1) dos enantiômeros de configuração *cis*. Uma vez que a estereoquímica é um importante fator para os efeitos biológicos deste fármaco nosso objetivo foi desenvolver um novo preparo de amostra para a extração de CETO em urina humana empregando os FCs como material adsorvente na μ -SPE para posterior análise enantiosseletiva do CETO por HPLC-DAD. Os FCs foram obtidos a partir de cigarros comerciais. Adicionou-se nitrogênio líquido e em seguida foram triturados. O material obtido foi caracterizado por espectroscopia de infravermelho (FT-IR), microscopia eletrônica de varredura (MEV) e análise termogravimétrica (TGA). Foi realizada a separação enantiosseletiva do CETO por HPLC-DAD em condições otimizadas. Foi desenvolvida a μ -SPE utilizando uma seringa comercial acoplada a uma ponteira com o material obtido acondicionado na ponta da mesma. Para otimizar μ -SPE foi preparada uma solução de CETO à 10 $\mu\text{g/mL}$ em urina fortificada e testadas as seguintes variáveis: volume e tipo de solvente de lavagem, volume e tipo de eluente, volume da amostra, quantidade de material, pH e a força iônica. Foi possível observar na FT-IR a presença de grupos hidroxilas com picos significativos a 3.440 cm^{-1} (atribuídos ao modo de estiramento O-H). Por MEV, o material apresentou uma superfície porosa e por TGA uma alta estabilidade térmica. Na μ -SPE em condições ótimas houve recuperação média de 100% para os enantiômeros do CETO. Assim, nosso estudo apontou que os FCs podem ser utilizados como material adsorvente para a extração de CETO em urina humana na μ -SPE. Em comparação com outros materiais de recheio disponíveis comercialmente e outras técnicas de preparo de amostra para a análise enantiosseletiva do CETO, houve baixo custo devido a disponibilidade do material e baixo consumo de solventes.

Agradecimentos: CNPq, FAPEMIG, CAPES e Rede Mineira de Química.



SORPTION-BASED MICROEXTRACTION TECHNIQUES - STATE-OF-THE-ART AND FUTURE TRENDS

J.M.F. Nogueira

*University of Lisbon, Faculty of Sciences, Chemistry and Biochemistry Department and
Centre of Chemistry and Biochemistry, Campo Grande, 1749-016 Lisbon, Portugal – nogueira@fc.ul.pt*

Nowadays the modern devices for microextraction analysis present miniaturization with convenient design, sorbent coatings with selective phases, easy manipulation of the analytical procedures, as well as, low sample volume requirements and negligible or even the absence of organic solvents, in agreement with the green analytical chemistry principles. Some of the currently well-established, successful or more accepted sorbent-based methodologies use the passive or static sampling mode, in which apart from other possibilities, solid-phase microextraction (SPME) and stir bar sorptive extraction (SBSE) are actually the most applied in many scientific areas. For trace analysis in particular, both are effective, very easy to implement and have demonstrating high-throughput to enhance selectivity and sensitivity prior the combination with chromatographic or hyphenated systems. Moreover, these techniques can use the headspace and immersion sampling modes for the enrichment proposes depending on the type of analytes involved, i.e. volatile, semi-volatile or non-volatile compounds. Besides SPME allows selecting the right sorbent phase polarity, presents in many cases low capacity in particular for ultra-trace analysis, the fibbers are expensive and is an approach more indicated for gas chromatography analysis. On the other hand, SBSE uses almost exclusively the nonpolar polydimethylsiloxane phase and, although have much higher capacity than SPME, presents lack of selectivity if polar targets are involved^[1]. Recently, we proposed the adsorptive microextraction (A μ E) techniques that operate under the floating sampling technology^[2], which uses a novel and more advanced enrichment mode. This new enrichment concept is based on the use of an analytical device, light in weight, simultaneously with a conventional teflon magnetic stirring bar at the bottom of the sampling flask. When the sample matrix is rapidly spinning around due to centripetal force promoted by the magnetic bar, the analytical device is left under free-floating motion just below the vortex centre. During a static process, the analytes that migrating by diffusion from the bulk sample are then retain in a convenient sorbent phase, where the microextraction takes place. Once the device usually present bar-shaped or cylindrical geometry, this new analytical approach is commonly designated by “bar adsorptive microextraction” (BA μ E). Several coating phases have already been tested with remarkable performance, including many types of activated carbons, polymers, mixtures, etc. Furthermore, these enrichment techniques combine the microextraction and concentration of the analytes simultaneously, having the possibility to use the back-extraction through the liquid desorption mode in only one single step. More recently, the polyurethanes were also introduced as a new sorbent matrix^[3], since this type of polymers can ideally combine the sorption and mechanical properties for both microextraction and back-extraction steps. On the other hand, they reduce the manipulation, the overall time required for sample preparation, and are indicated to be combined with the great sensitivity of the modern instrumentation. The present contribution is an overview on the state-of-the-art and future trends of sorption-based microextraction techniques, including the discussion on the practical manipulation, cost, selectivity, sensitivity, as well as, the best strategy for application to real samples. Keywords: Sorption-based methods, Static microextraction techniques, Bar adsorptive microextraction (BA μ E), Floating sampling technology, Nanostruturated materials, Polyurethane foams, Applications to real matrices.

References

1. J.M.F. Nogueira, *Anal. Chimica Acta* 757 (2012) 1.
2. N.R. Neng, A.R.M. Silva, J.M.F. Nogueira, *J. Chromatogr. A* 1217 (2010) 7303.
3. N.R. Neng, M.L. Pinto, J. Pires, P.M. Marcos, J.M.F. Nogueira, *J. Chromatogr. A* 1171 (2007) 8.

Acknowledgements: The author thanks Fundação para a Ciência e a Tecnologia (Portugal; Pest-OE/QUI/UI0612/2013) for funding.

HPLC AND DLLME FOR THE ANALYSIS OF LORATADINE AND DESLORATADINE IN FUNGAL CULTURE MEDIUM

Anna Carolina Câmara Damazio; Denise Oliveira Guimarães;
Michelle Frazão Muzitano; Thiago Barth

*Laboratório de Produtos Bioativos, Universidade Federal do Rio de Janeiro,
Campus Macaé-IMMT, Rua Alcides da Conceição, 159 - Macaé - RJ, 27930-560
thiagobarth@macae.ufjf.br*

Loratadine (LTD) is a, non-sedating, long-acting antihistamine agent, exhibiting selectivity for histamine H₁-receptors. This drug is therapeutically used to the treatment of allergic rhinitis and chronic urticaria. LTD is extensively metabolized to desloratadine (DLTD), its active metabolite, via hydrolysis of the carbamate moiety by action of CYP3A4 and CYP2D6 enzymes. The potency of DLTD, the free fraction, and the circulating concentration are higher than the parent drug. These factors combined, it suggests that DLTD is the main responsible for the *in vivo* antihistaminic activity and justify the current use of DLTD as a drug itself. Microbial models have been used to study the biotransformation of numerous drugs with the aim of producing their corresponding metabolites. The use of fungi is advantageous because they grow quickly and easily and have been considered by synthetic organic chemists an economically, viable, and competitive technology for obtaining fine chemicals and pharmaceuticals in comparison with the organic synthesis. In order to monitor the LTD biotransformation, the aim of this work was to develop a method for the analysis of LTD and DLTD in fungal culture medium using dispersive liquid-liquid microextraction (DLLME) prior to HPLC analysis as sample preparation method. The chromatographic separation was evaluated at isocratic and gradient modes using acidified water, methanol and acetonitrile mixtures. For the DLLME optimization were evaluated the follow parameters: kind of extraction (chloroform and dichloromethane) and disperser solvents (acetone, acetonitrile, methanol, and ethanol), volumes of extraction (100, 200, 300, 400, and 500 μ L) and disperser solvent (300, 400, 500, 600, and 700 μ L), sample matrix pH (7, 9, 10, 12) and the microwave and vortex influence after cloud solution formation. The HPLC separation was carried out in a Shimpack C18 column (150 x 4 mm, 5 μ m) at reverse phase using a gradient as elution mode: 35 to 100% of (B) (0 – 6 min); 100% of (B) (6.1 – 10 min). The mobile phase (A) was phosphoric acid solution 0.1% and the mobile phase (B) was methanol. The UV detector was setted at 248 and 276 nm. At these conditions the LTD, DLTD, and cetirizine (internal standard) were simultaneously analyzed within 10 min. The DLLME optimized parameters were dichloromethane (200 μ L) as extractor solvent, ethanol (500 μ L) as disperser solvent, pH 12 and cloud solution without vortex or microwave assistance. The recoveries from 1 mL of the fungal culture medium were 35% for LTD and 61% for DLTD.

Acknowledgements: FAPERJ and PIBIC-CNPq.



O AVANÇO DA TÉCNICA DE MICROEXTRAÇÃO EM SORVENTE EMPACOTADO (MEPS) NA ANÁLISE DE ALIMENTOS

Patricia Regina de Souza; Fernando Mauro Lanças

Instituto de Química de São Carlos - Universidade de São Paulo

patriciasouza@iqsc.usp.br

A microextração em sorvente empacotado (MEPS) é uma técnica analítica que foi desenvolvida em 2004, por Abdel-Rehim. Tal procedimento é conhecido também como a miniaturização da SPE, afinal consiste na redução do número de fases do método analítico, redução ou eliminação do solvente necessário para a extração, menor quantidade de amostra para a análise, adaptação no campo de amostragem e possibilidade de automação. Em MEPS, diferente da SPE, o processo ocorre em uma microseringa, em que um material sorvente seletivo está empacotado e conectado a uma agulha. É possível acoplá-la a LC, GC ou eletroforese capilar. As microcolunas de MEPS, dependendo da complexidade da amostra, podem ser reutilizadas de 50 a 100 vezes. Desde que MEPS surgiu, as principais pesquisas tem sido direcionadas às amostras de matrizes biológicas (urina, plasma e sangue) e ambientais (água). O interesse em análises em alimentos e bebidas tem surgido desde 2006, e descreve MEPS em análises de sucesso em amostras de vinho tinto, extrato de chá, gorduras, leite e produtos lácteos, cereais, ovos e carne^[1,2]. Não há relatos na literatura de pesquisas desta técnica em análises em frutas. A determinação de pesticidas e outros contaminantes nos mais diversos tipos de alimentos vêm aumentando nos últimos anos em todo o mundo, uma vez que a quantidade encontrada destes compostos, às vezes, é maior do que a permitida segundo as legislações de fiscalização. Isso faz com que MEPS se torne uma técnica de preparo de amostra atraente, pois trata-se de uma técnica atual, engloba os princípios da química verde (menor quantidade de solvente e amostra) e diversas outras vantagens, além do volume utilizado ser apropriado para a injeção direta no LC e GC. Este trabalho tem como objetivo abordar o avanço da técnica de preparo de amostras MEPS em amostras de alimentos, ressaltando vantagens e desvantagens.

Referências Bibliográficas:

1. LAHOUTIFARD, N.; DAWES, P.; WYNNE, P. MICRO EXTRACTION PACKED SORBENT (MEPS): ANALYSIS OF FOOD AND BEVERAGES. SGE – ANALYTICAL SCIENCE.
2. SALAMI, F. H.; QUEIROZ, M. E. C. Microextraction in Packed Sorbent for Determination of Sulfonamides in Egg Samples by Liquid Chromatography and Spectrophotometric Detection. J. Braz. Chem. Soc., Vol. 22, No. 9, 1656-1661, 2011.

NOVA TECNOLOGIA DE AUTOMAÇÃO SOLUCIONA AS LIMITAÇÕES DO ACOPLAMENTO SPE-SEPARAÇÃO CROMATOGRÁFICA

Rick Youngblood¹, Kim Gamble¹, Danilo Pierone²

¹MicroLiter Analytical Supplies, Suwanee, GA, USA; ²Nova Analítica, São Paulo, SP, BR
danilo.pierone@novanalitica.com.br

A Extração em Fase Sólida (SPE) é uma técnica de preparação de amostras muito empregada para o clean-up da amostra e concentração de analitos, porém, a SPE realizada manualmente é demorada, complexa e sujeita a erros humanos. Por outro lado, uma grande vantagem da SPE é a sua capacidade de automação que lhe confere maior capacidade de amostras, menor tempo total de análise e maior precisão e exatidão. A limitação da SPE automática com cartuchos tradicionais é a frequente perda de eficiência com mudanças no formato dos picos, efeito memória (carryover), sobrecarga de analito, incompatibilidade com amostras instáveis e custos ainda muito elevados dos instrumentos necessários. Uma nova tecnologia para o acoplamento da SPE com cromatógrafos permite que o usuário automatize a SPE empregando apenas cartuchos específicos e um amostrador automático usual. A automação da SPE on-line com a cromatografia, neste caso, é alcançada através de um passo-a-passo simples, de custo acessível, apenas com a instrumentação presente no laboratório. Esses novos cartuchos contêm septo e selo para vedação, uma guia para a agulha do amostrador automático e fase sólida adequada à aplicação. Bandejas contendo os cartuchos são instaladas no amostrador automático, sem a necessidade de adaptações. Quando a agulha da seringa do amostrador automático perfura o septo do cartucho, ocorre a criação de um ambiente fechado acima do leito de fase sólida. A amostra é forçada a percolar através do leito sólido pela pressão do êmbolo da seringa, de modo altamente controlado. A seringa atua também como o reservatório de solvente de cada cartucho de SPE. A seringa presa ao septo permite que o cartucho seja transportado para qualquer lugar do amostrador automático. O cartucho pode ser preparado em um local e movido para eluir o extrato em outro local. Uma vez que o extrato é transferido para um vial, o amostrador pode descartar o cartucho e injetar o extrato no instrumento analítico. Uma vantagem desta técnica é sua habilidade de executar automaticamente e in-line a extração e clean-up da amostra, e a injeção do extrato. A validação de um método de determinação de compostos-alvo em matriz complexa, com o uso desta nova tecnologia de automação da SPE, será apresentada. Os parâmetros avaliados são: repetibilidade (precisão), linearidade, limite de quantificação, recuperação e especificidade. Aplicações desta solução para a automação da SPE on-line com a cromatografia também serão apresentadas.



DESENVOLVIMENTO DE UM MÉTODO ANALÍTICO PARA DETERMINAÇÃO DE SULFUNILURÉIAS EMPREGANDO MEPS-LC-ToF

Felipe Nascimento Andrade, Álvaro José dos Santos Neto,
Fernando Mauro Lanças

*Laboratório de Cromatografia, Instituto de Química de São Carlos,
Universidade de São Paulo, São Carlos-SP, Brasil
felipe_nandrade@yahoo.com.br*

As sulfonilurétrias tem sido empregadas amplamente na agricultura e seu uso impróprio pode resultar na contaminação humana e ao meio ambiente. Devido ao fato estes resíduos serem encontrados em baixas concentrações, é de extrema importância o desenvolvimento de métodos analíticos que apresentem elevada seletividade e sensibilidade para a monitoração destes resíduos. A microextração em dispositivos preenchidos com sorvente (MEPS, do inglês “*Microextraction by Packed Sorbent*”) é um avanço na extração em fase sólida, sendo uma técnica simples, rápida, com baixo consumo de solventes e amostra e podendo apresentar um elevado fator de pré-concentração. Vale ressaltar que outro fator importante é a disponibilidade de sorventes que são empregados como fase sólida nesses processos de extrações, sendo grande a busca por novos sorventes que apresentem alta seletividade, principalmente, no desenvolvimento de novos métodos analíticos. Nesse contexto destacam-se os polímeros impressos molecularmente, (MIP, do inglês, *Molecularly Imprinted Polymers*), que tem sido empregado em diversos tipos de analitos e matrizes. O objetivo desse trabalho foi o desenvolvimento de um método analítico para determinação de herbicidas da classe das sulfonilurétrias em amostras de milho empregando a MEPS. O sistema de cromatografia líquida consistiu de um HPLC série Prominence 20AD da Shimadzu, coluna cromatográfica NSC C18 (150 mm x 2.1 mm x 5 µm), injeção 5 µL, temperatura do forno 35°C, vazão 0,2 mL min⁻¹, proporção fase móvel (40:60) ACN: H₂O com 0,1% ácido acético. Utilizou-se um espectrômetro de massas híbrido (QqTOF), Bruker, modelo micrOTOF-Q II, funcionando no modo full MS. A fonte de electrospray operou no modo positivo de ionização, voltagem do capilar de 3,5 kV, pressão do nebulizador de 4 bar, vazão do gás secante de 8 L min⁻¹ e temperatura da fonte: 200 °C. O método foi validado de acordo com os guias da ANVISA (RE 899) e diretivas da comunidade europeia (CE 657) demonstrando precisão, exatidão e recuperação satisfatória para todos os analitos. A linearidade do método analítico MEPS-LC-ToF foi avaliada através da faixa linear 2,50 – 40,0 µg kg⁻¹ construída em matriz de milho fortificada. O método apresentou limite de detecção e quantificação de 0,83 e 2,5 µg kg⁻¹, respectivamente. Os resultados obtidos neste estudo para a classe das sulfonilurétrias demonstrou que a combinação entre o emprego da impressão molecular e MEPS possibilitou uma maior seletividade e sensibilidade para o método desenvolvido.

Agradecimentos: Processo FAPESP 2011/09898-4; CNPq e CAPES.

DETERMINAÇÃO DE TRIAZOLE, TRAZINAS E TRIAZINONAS EM ÁGUA POR DLLME E CG-MS: UMA AVALIAÇÃO INICIAL

Jaqueline da Silva Duarte, Eliana Freire Gaspar de Carvalho Soares,
Ricardo Dalla Villa

*Universidade Federal de Mato Grosso - Avenida Fernando Correa da Costa, Nº 2.367,
Bairro: Boa Esperança, Cuiabá-MT
jaquimica@hotmail.com*

Neste trabalho a microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME) foi avaliada para a determinação de quatro triazinas (ametrina, atrazina, prometrina e terbutilazina), duas triazinonas (metribuzin e hexazinona) e um triazole (flutriafol), pesticidas bastante utilizados em culturas de milho, cana de açúcar e algodão no Estado de Mato Grosso. Dentre as variáveis que influenciam a DLLME, foram avaliados o pH (4 a 6) e a força iônica das amostras, ajustada por meio da adição de NaCl 0%, 10% e 20% (m/v). Como solventes extrator e dispersor foram utilizados tolueno e acetonitrila, respectivamente. Para os ensaios de adição e recuperação, foi utilizada água deionizada fortificada com 200 ng/mL de cada agrotóxico. No procedimento de extração, 7,50 mL da amostra foram transferidos para um tubo de ensaio de 15 mL, ao qual foram adicionados 750 µL do solvente dispersor e 150 µL do solvente extrator. Posteriormente, o conteúdo do tubo foi agitado em vortex por 30 segundos e centrifugado a 5000 rpm por 5 minutos. Para quantificação dos analitos por CG-MS, 100 µL da fase orgânica sobrenadante foram transferidos para um frasco redutor de volume (insert), que permitiu a automatização das injeções cromatográficas. Em todos os experimentos, as recuperações da terbutilazina e hexazinona ficaram entre 11 a 68%. No entanto, para os demais analitos as recuperações variaram de 75 a 126% nos ensaios sem adição de NaCl e de 88 a 111% nos ensaios com as amostras a 10% (m:v) de NaCl. Foi observado também que aumentando a concentração de NaCl (solução a 20% m:v) houve a diminuição em até 25% da recuperação de alguns analitos. Em todos os ensaios os desvios padrão relativos (RSD) foram inferiores a 9%, destacando a precisão do método. O pH das amostras não teve influência sobre a recuperação dos analitos. A fim de melhorar a exatidão e precisão do método, principalmente para a terbutilazina e hexazinona, serão feitos novos ensaios com outros solventes dispersores, já que a esta variável exerce grande influência sobre a DLLME. Dentre as vantagens do método proposto, pode-se destacar as poucas etapas do procedimento de preparo de amostra e o baixo consumo de reagentes. Estas características associadas aos resultados obtidos, colocam a DLLME como uma alternativa promissora para a determinação dos referidos analitos em água, que é de suma importância para avaliações ambientais, principalmente em regiões agrícolas onde são utilizadas grandes quantidades destes agrotóxicos.

Agradecimentos: CNPq.



AValiação DO EFEITO DE MATRIZ NA PRÉ-CONCENTRAÇÃO DE PRODUTOS DE DEGRADAÇÃO DA SULFAMETAZINA

Martins J., Ferreira T., Lanças F., Santos-Neto A.

*Instituto de Química de São Carlos, São Carlos, São Paulo, 13566-590, Brasil
julia25m@iqsc.usp.br*

As altas concentrações de antibióticos utilizadas nos estudos de degradação já publicados dificultam o entendimento da real situação que ocorre no meio ambiente, onde baixas concentrações desses fármacos são usualmente encontradas. Além disso, fazer uso de matrizes progressivamente mais complexas torna o estudo de produtos de degradação mais eficiente. O estudo em água ultrapura se faz necessário para a identificação dos compostos, porém seu comportamento em meios como o esgoto sintético deve ser conhecido, assim como a influência dos interferentes presentes nessa matriz durante a extração e a análise. Para esse estudo, a fotólise da sulfametazina (SMZ) foi feita em água ultrapura utilizando uma lâmpada UV-C (9 W). A pré-concentração das amostras foi feita por microextração por sorvente empacotado (MEPS) utilizando o sorvente Oasis HLB (Waters) e eluição por etapas com metanol e metanol alcalinizado (5% de hidróxido de amônio). As condições cromatográficas foram: coluna Kinetex XB-C18 (100 mm x 2,1 mm, 2,6 μ m, Phenomenex) num forno a 40 °C, eluição por gradiente (5-95% acetonitrila/água (v/v) contendo 0,1% de ácido fórmico) e vazão de 0,25 mL/min. O sistema cromatográfico (Shimadzu 20A Prominence) foi acoplado ao espectrômetro de massas ESI-Q-ToF (Bruker) para identificação dos compostos. Para avaliar o efeito de matriz na pré-concentração dos produtos de degradação da SMZ, foram feitas três séries de diluições. Série A: amostra de SMZ degradada diluída em água ultrapura. Série B: amostra de SMZ degradada adicionada ao esgoto sintético após MEPS. Série C: amostra de SMZ degradada adicionada ao esgoto sintético antes de MEPS. O efeito de matriz percentual é calculado por uma razão entre os resultados obtidos nas séries B e A multiplicado por 100. Outras relações permitem o cálculo de recuperação ($C/B \times 100$) e eficiência total do processo ($C/A \times 100$). O valor absoluto de efeito de matriz se torna útil em análises quantitativas. Para esse estudo, a questão é se ele existe ou não e se é de supressão ou aumento de ionização. Dentre os resultados obtidos, o menor valor de efeito de matriz foi para o produto de degradação m/z 215A (80,20%) e o maior valor foi para m/z 215B (120,47%). A SMZ inalterada também foi influenciada pelo efeito de matriz e apresentou um valor de 88,27%. Se não houvesse efeito de matriz, o valor obtido seria 100%, pois as séries B e A teriam valores iguais. Logo, esses resultados demonstram que os componentes do esgoto sintético interferem apenas moderadamente na análise dos produtos de degradação, tanto suprimindo sua ionização (como no caso de 215A) quanto aumentando sua ionização (caso de 215B). A influência do efeito de matriz deve ser conhecida para que a aplicação do método desenvolvido à uma amostra real seja interpretada de maneira correta e coerente, principalmente na área de produtos de degradação, na qual as informações ainda são escassas.

J. M. agradece à FAPESP pela bolsa de mestrado concedida (Processo 2013/06415-8) e ao Projeto APR (Processo 2010/19910-9).

DESENVOLVIMENTO DE UM MÉTODO ANALÍTICO PARA DETERMINAÇÃO DE AGROTÓXICOS EM GARAPA POR MEPS-GC-MS

Bruno Fumes; Fernando Mauro Lanças

IQSC-USP-Laboratório de Cromatografia

brunofumes@iqsc.usp.br

A maior demanda por alimentos, aliada à necessidade de combater diversos tipos de pragas em plantações, fez com que o uso de agrotóxicos se intensificasse de forma global na última década. O número elevado de ingredientes ativos presentes em um só composto, suas diferenças físico-químicas, a diversidade das matrizes em que são encontrados, e suas baixas concentrações, fazem a etapa de preparação um desafio na obtenção de bons resultados. Nesse cenário o uso de técnicas miniaturizadas de preparo de amostra vem ganhando destaque devido ao seu baixo consumo de solvente, e também por não necessitarem de grandes quantidades de amostras. Dentre essas técnicas o MEPS (microextraction in a packed syringe) apresenta grande potencial por poder ser acoplado on-line, sem grandes modificações, a cromatografia gasosa e líquida, não requerer grande quantidade de tempo para análise e seu cartucho sorvente ser reutilizável. O uso de MEPS para análise de agrotóxicos não foi muito explorado até o momento, principalmente na área de alimentos, e por esse motivo, o presente trabalho visa o desenvolvimento de uma metodologia analítica que será utilizada na determinação de agrotóxicos em garapa. A garapa é um derivado da cana-de-açúcar obtido através de sua moagem, e encontrada geralmente em barracas de feiras livres. Na literatura existem poucos trabalhos que exploram o desenvolvimento de métodos analíticos para determinação dos agrotóxicos utilizados na cultura da cana-de-açúcar em amostras de garapa. Entre os encontrados destacam-se o uso de técnicas de preparo de amostra como QuEChERS, MSDP e SBSE, porém ainda não há uma metodologia analítica que utilize MEPS como técnica de extração. No desenvolvimento inicial desse método utilizando MEPS, foi feita uma análise de diferentes fases de extração, analisando as variáveis força iônica, pH, solvente de eluição e volume do solvente de eluição, por experimentos fatoriais. Os efeitos desses experimentos que otimizavam a extração foram selecionados e realizado um experimento univariado para que a melhor fase disponível comercialmente fosse selecionada. A fase extratora C18 Chromabond foi a que apresentou melhor extração dentre as comparadas para os mesmos agrotóxicos avaliados nas amostras de garapa e será utilizada na validação do método depois da otimização de parâmetros como ciclos de aspiração da amostra, lavagem e desorção.

Agradecimentos: CNPq e FAPESP processo 2013/17425-4.



SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DO GRAFENO COMO SORVENTE EM MEPS

Bruno Fumes; Fernando Mauro Lanças

IQSC-USP-Laboratório de Cromatografia

brunofumes@iqsc.usp.br

O uso de técnicas miniaturizadas de preparo de amostra vem ganhando destaque nos últimos anos devido ao seu baixo consumo de solvente, e também por não necessitarem de grandes quantidades de amostras. Em conjunto a essas técnicas miniaturizadas, a busca por materiais que apresentem maior eficiência na extração também é crescente, dentre eles destacam-se o RAM, MIP, e mais recentemente o grafeno. O grafeno começou a ser utilizado no preparo de amostras devido a suas propriedades como a grande área superficial, boa estabilidade térmica, química e mecânica, podendo ser produzido a um baixo custo. Em teoria, essa forma alotrópica do carbono apresenta boas propriedades para atuar como material adsorvente e isso faz dele um material com excelente potencial para ser utilizado em microtécnicas. Alguns estudos já utilizaram o grafeno como revestimento em fibras de SPME na análise de piretróides, organoclorados e triazinas. O uso do grafeno como revestimento de barras de SBSE foi explorado para determinação de PHAs em amostras ambientais e alimentícias. Há também registros na literatura do uso do grafeno como sorvente em SPE e PT-SPE. Porém até o presente momento, não foi encontrado o uso de grafeno como sorvente em MEPS, e por esse motivo, nesse trabalho buscou-se fazer uma avaliação inicial desse material. A síntese do grafeno, foi realizada partindo do método de Hummers, que utiliza o grafite para obtenção do óxido de grafite, que passa por um processo denominado esfoliação química para fornecer o óxido de grafeno que é reduzido finalmente à grafeno. O grafeno foi caracterizado por difração de raios-X e espectroscopia Raman. A eficiência do grafeno como material sorvente foi avaliada na extração de agrotóxicos utilizados na cultura de cana-de-açúcar em amostras de garapa e água. Comparando os resultados com os obtidos de uma fase mista (grafeno/C18) e uma fase C18 pura.

Agradecimentos: CNPq e FAPESP processo 2013/17425-4.

SÍNTESES DE MIPS PARA A DETERMINAÇÃO DE SULFONAMIDAS EM MATRIZES COMPLEXAS

Luis Felipe Rodríguez Cabal, Fernando Mauro Lanças,
Álvaro José dos Santos Neto

*Laboratório de Cromatografia, Instituto de Química de São Carlos,
Universidade de São Paulo, São Carlos-SP, Brasil
lfrodriguezcabal@gmail.com*

As sulfonamidas são antibióticos amplamente utilizados na medicina humana e animal. Por apresentarem um custo relativamente baixo, além de seu uso medicinal são comumente utilizadas como aditivos nos alimentos para promover o crescimento de animais. O alto consumo das sulfonamidas é preocupante, pois grandes quantidades desses compostos são descartadas no ambiente por meio de excreções humanas, excreções animais e por águas residuárias industriais e hospitalares. A presença de sulfonamidas no ambiente, mesmo em níveis de traços, pode gerar uma toxicidade direta nas espécies expostas bem como a proliferação seletiva de bactérias resistentes, que podem transferir os genes de resistência para outras espécies bacterianas. O impacto ambiental negativo ocasionado por esse tipo de compostos exige o monitoramento adequado e o conseqüentemente desenvolvimento de técnicas de análise e de preparo de amostra que consigam atingir suficientes intervalos de detecção. Na atualidade a SPE é uma técnica bastante utilizada para extração de analitos em amostras ambientais, pois permite trabalhar com um consumo de solvente reduzido, sua reprodutibilidade é alta, o tempo de preparo de amostra é curto e permite a automatização. No formato automatizado online a fase extratora é empacotada em uma pré-coluna e ligada ao sistema cromatográfico geralmente por meio de uma válvula de seis posições. Dentre as possíveis fases para a SPE os polímeros molecularmente impressos (MIP) têm tornado-se atrativos por causa de sua alta seletividade em comparação com as fases extratoras tradicionais; além disso, permitem, mediante procedimentos simples, associar a tecnologia MIP com a tecnologia de materiais de acesso restrito - RAM (do inglês: restricted access media) obtendo assim os materiais RAM-MIP. Nesse trabalho foi sintetizado e avaliado o desempenho de um polímero de impressão molecular (MIP), e três polímeros de impressão molecular restritos à ligação de macromoléculas (RAM-MIP, BSA-MIP e RAM-MIP-BSA) para a pré-concentração seletiva de sete sulfonamidas (SNs) em amostras complexas para análise em sistema HPLC-bidimensional. Os materiais obtidos foram avaliados em termos de fator de retenção, seletividade, seletividade competitiva e capacidade de eliminação de macromoléculas. Sendo o polímero BSA-MIP o que apresentou melhores resultados. Esse polímero demonstrou ser até 31 vezes mais seletivo para sulfonamidas do que para alguns interferentes como fluoroquinolonas, cafeína, ácido acetilsalicílico entre outros, também demonstrou uma capacidade de exclusão de macromoléculas de quase 100% ao ser testado com uma solução de 44 mg mL⁻¹ de BSA.

Agradecimentos: IQSC, FAPESP (2010/19910-9), CAPES e CNPq.



ESTUDO DE BIOTRANSFORMAÇÃO DA ZOPICLONA E ANÁLISE ENANTIOSSELETIVA EMPREGANDO DLLME-CE

Nayara Cristina Perez de Albuquerque*; Anderson Rodrigo Moraes de Oliveira

Departamento de Química, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto

USP - Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil

**nayara.albuquerque@usp.br*

A zopiclona (ZO) é um fármaco quiral indicado para o tratamento a curto prazo da insônia. O metabolismo ocorre principalmente no fígado, e são produzidos dois principais metabólitos também quirais: N-desmetilzopiclona (N-Des) e zopiclona-N-óxido (N-Ox). A (S)-N-Des apresenta atividade ansiolítica, o que indica que este metabólito possui potencial para ser empregado no tratamento clínico da ansiedade. Uma alternativa para obtenção deste metabólito pode ser a biotransformação empregando fungos como agentes catalisadores. O presente trabalho avaliou o potencial de fungos em realizar o metabolismo da ZO em seu metabólito ativo N-Des, assim como verificar a enantiosseletividade desse processo. A análise da ZO e seus metabólitos em meio de cultura líquido proveniente do estudo de biotransformação foi realizada por eletroforese capilar (CE) e, como técnica de preparo de amostras, foi empregada a microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME). O método foi validado seguindo as exigências do EMA e ANVISA para análise de fármacos em matrizes biológicas. O método foi linear no intervalo de concentração de 90-6000 ng mL⁻¹ para cada enantiômero da ZO ($r > 0,999$) e 50-1000 ng mL⁻¹ para cada enantiômero da N-Des ($r > 0,998$); a recuperação absoluta média foi de 52% para N-Des e 83% para ZO. Os demais parâmetros, como precisão, exatidão, seletividade e estabilidade apresentaram-se dentro das normas exigidas pelos guias. O estudo de biotransformação foi realizado com os fungos *Penicillium crustosum*, *Aspergillus fumigatus*, *Nigrospora sphaerica* (Sacc.) E.W. Mason, *Fusarium oxysporum*, *Mucor rouxii*, *Cunninghamella elegans* ATCC 10028B e *Cunninghamella echinulata* var *elegans* ATCC 8688A. Entre os fungos avaliados, os do gênero *Cunninghamella* foram capazes de biotransformar a ZO para seu metabólito ativo N-Des. Utilizando o fungo *Cunninghamella echinulata* var. *elegans* ATCC 8688A, após 360 horas de incubação, foi obtida uma concentração máxima de (-)-(R)-N-Des e (+)-(S)-N-Des de 508 ng mL⁻¹ e 221 ng mL⁻¹, respectivamente com excesso enantiomérico de 39%. O fungo *Cunninghamella elegans* ATCC 10028B formou preferencialmente o metabólito (+)-(S)-N-Des. Após 240 horas de incubação, a concentração dos metabólitos (-)-(R)-N-Des e (+)-(S)-N-Des foi 120 ng mL⁻¹ e 228 ng mL⁻¹, respectivamente com excesso enantiomérico de 35%. O presente trabalho demonstra a possibilidade do emprego dos fungos do gênero *Cunninghamella* para a biotransformação da ZO em seu metabólito ativo N-Des. Além disso, este é o primeiro relato de N-demetilação estereosseletiva utilizando estes fungos.

Agradecimentos: À FAPESP, CNPQ e CAPES pelo auxílio financeiro.

AValiação DA DLLME NA EXTRAÇÃO DE MARCADORES DA PRÓPOLIS PARA POSTERIOR ESTUDO DE METABOLISMO

Daniel B. Carrão^{1*}, Andresa A. B. Silva², Anderson R. M. de Oliveira¹

¹*Departamento de Química, FFCLRP-USP, Ribeirão Preto/SP, Brasil*

²*Apis Flora Industrial e Comercial Ltda, Ribeirão Preto/SP, Brasil*

**daniel.carrao@usp.br*

A própolis é uma substância resinosa obtida pelas abelhas a partir de exsudatos de plantas presentes no seu habitat. Sua composição química varia de acordo com a flora presente na região geográfica da sua origem. A Própolis Verde Brasileira (PVB) é característica da região do cerrado e sua principal fonte é a planta *Baccharis dracunculifolia* AC. A PVB é empregada como medicamento natural, sendo conhecida por possuir diversas propriedades farmacológicas: anti-inflamatória, antioxidante, antimicrobiana, antiviral, anti-hipertensiva e anticancer. Dentre os componentes da PVB, pode se destacar a presença dos seguintes marcadores: ácidos caféico, p-cumárico, ferúlico e cinâmico. Estudos de metabolismo in vitro empregando microsomas hepáticos humanos são o modelo mais utilizado para a determinação de parâmetros cinéticos e identificação de metabólitos. A Microextração Líquido-Líquido Dispersiva (DLLME), desenvolvida em 2006 por Rezae e seus colaboradores, é baseada na injeção de uma mistura de solvente extrator e dispersor em uma amostra aquosa, provocando a formação de um estado de turbidez (ponto nuvem), favorecendo a partição do analito para a fase extratora. O objetivo desse estudo foi avaliar o emprego da DLLME na extração de marcadores ácidos da PVB para posterior estudos de metabolismo in vitro. As análises foram realizadas utilizando uma coluna C18 (100 mm x 4,6 mm d.i. e 2,7 µm) e como fase móvel foi utilizado um gradiente de metanol:ácido fórmico 0,1% com vazão de 1,6 mL/min. Para a otimização da DLLME os seguintes parâmetros foram avaliados: tipo e volume do solvente extrator e dispersor, acidificação da amostra e agitação em vortex. Depois da formação do ponto nuvem, as amostras foram centrifugadas a 3000 rpm por 5 min. Posteriormente, a fase sedimentada contendo os analitos foi coletada, seca sob fluxo de ar comprimido, ressuspendida em 200 µL de metanol : água (50:50 v/v) e injetadas no HPLC. Inicialmente foram avaliadas todas as combinações de solventes extratores (diclorometano, 1,2-dicloroetano, clorofórmio e tetracloroeto de carbono) com os solventes dispersores (acetona, acetonitrila, etanol, isopropanol e metanol). A seguir, foram avaliados o volume de solvente extrator (50 a 400 µL) e dispersor (0 a 500 µL). Foi avaliada a adição de diferentes concentrações de ácido clorídrico de 25 a 100 mmol/L e água à amostra. E, por fim, avaliou-se o auxílio da agitação em vortex na formação do ponto nuvem de 0 a 30 s. A condição final da DLLME foi de 200 µL de clorofórmio como solvente extrator, 300 µL de isopropanol como solvente dispersor, adição de ácido clorídrico 25 mmol/L à amostra e agitação por 10 s. A DLLME se mostrou uma técnica de preparo de amostra simples, rápida e reprodutiva para a análise dos marcadores da PVB em estudos de metabolismo in vitro empregando microsomas hepático humanos.

Agradecimentos: FAPESP, CNPq e CAPES pelo suporte financeiro e pela concessão de bolsas de pesquisas.



DETERMINAÇÃO DPX/LC-UV DE DEXAMETASONA EM SISTEMAS MICROPARTICULADOS DE LIBERAÇÃO CONTROLADA

F. Q. Soares¹, M. C. R. C. Coltro¹, M. A. Ruggiero², E. M. Lima³, D. Rabelo¹, E. A. R. Chaves¹

¹Instituto de Química - UFG

²Instituto Federal de Goiás - Campus Inhumas - IFG

³Faculdade de Farmácia - UFG

andresearchaves@gmail.com

A dexametasona é um glucocorticoide com ação anti-inflamatória e imunossupressora. Possui extensa aplicação terapêutica, em diferentes concentrações e mecanismos de absorção, assim o desenvolvimento de micropartículas como sistema de liberação controlada para dexametasona é interessante e altamente viável. Para os sistemas microparticulados de liberação controlada de fármacos o desenvolvimento de métodos analíticos rápidos, eficientes, altamente reprodutíveis tem sido requeridos em razão dos baixos níveis de concentração dos fármacos. A microextração em fase sólida em micropipeta sorvente empacotada, DPX, tem sido empregada no tratamento prévio de amostras biológicas, especialmente para eliminação dos compostos endógenos. No entanto, sua aplicação tem sido restrita, devido ao limitado número de fases extratoras disponíveis comercialmente. Os polímeros condutores suportados em polímeros porosos apresentam alta área superficial resultando em maior número de sítios ativos sendo, portanto, uma promissora alternativa para aplicação como fases extratoras em técnicas miniaturizadas de preparo de amostra. Neste trabalho, compósitos de copolímeros porosos estireno-divinilbenzeno recobertos com polianilina foram empregadas como fase extratora para DPX e avaliadas frente à determinação e quantificação de dexametasona em sistemas microparticulados de liberação controlada de fármacos (poliácido láctico) por análises DPX/LC-UV (DPX/cromatografia líquida com detecção UV-vis). O copolímero foi sintetizado por polimerização em suspensão em meio aquoso utilizando heptano e tolueno como agentes porogênicos. O grau de reticulação (26%), diluição (150%) e proporção dos diluentes (85:15) foi escolhido para obtenção de uma estrutura porosa. Os compósitos foram obtidos em quatro ciclos de entumescimento do copolímeros em solução do monômero de anilina seguido de oxidação com peróxido de benzoíla em meio ácido. As fases resultantes foram empregadas nas análises DPX/LC-UV de dexametasona em sistemas microparticulados de liberação controlada. As variáveis DPX, volume de amostra, número de ciclos: aspirar e dispensar, pH, força iônica e parâmetros de dessorção foram avaliadas para maior sensibilidade analítica em menor tempo de análise. Segundo parâmetros otimizados, a maior sensibilidade analítica foi obtida com extração em 300 µL de amostra (solução resultante após processo de diálise para liberação) diluído em água deionizada com 3 ciclos aspirar e dispensar de 300 µL e dessorção em 300 µL de acetonitrila com 3 ciclos. Em etapa futura o método deverá ser validado segundo regulamentação da ANVISA.

Agradecimentos: CNPq, CAPES e FAPEG.

DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA POR HS-SPME/ CG-FID PARA DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS VOLÁTEIS EM VINHOS

Stefany Grützmann Arcari^{1*}; Vinícius Caliar²; Helena Teixeira Godoy³

¹Departamento de Ciência de Alimentos, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), CP 6121, 13083-862, Campinas, SP, Brasil; Instituto Federal de Educação,

Ciência e Tecnologia de Santa Catarina, Câmpus São Miguel do Oeste, 89900-000, São Miguel do Oeste, SC, Brasil

²Epagri – Estação Experimental de Videira, Rua João Zardo, 1660, Bairro Campo Experimental; 89560-000, Videira, SC, Brasil

³Departamento de Ciência de Alimentos, Faculdade de Engenharia de Alimentos,

Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), CP 6121, 13083-862, Campinas, SP, Brasil

*arcari.ste@gmail.com; stefany.arcari@ifsc.edu.br

O aroma é um dos quesitos mais importantes que influencia a qualidade e a aceitação dos vinhos pelos consumidores. É extremamente complexo devido à presença de mais de mil constituintes de aroma que podem pertencer a inúmeras classes de compostos como álcoois, terpenos, cetonas, ésteres, ácidos, lactonas, entre outros. Devido à complexidade do vinho e das baixas concentrações dos constituintes de aroma, sua análise requer etapas de extração e pré-concentração. Uma técnica amplamente empregada para esta finalidade é a microextração em fase sólida no modo headspace (HS-SPME), cujo preparo de amostra é baseado na adsorção, que constitui uma ferramenta confiável para a análise de compostos voláteis e semi-voláteis orgânicos. Diante disso, este estudo objetivou o desenvolvimento e validação de uma metodologia por HS-SPME combinada com cromatografia gasosa com detector de ionização de chama (CG-FID) para a quantificação de vinte e oito compostos voláteis em vinhos, sendo eles quatro álcoois fúseis, dez ésteres, quatro terpenos, uma lactona e nove ácidos graxos. O procedimento de preparo das amostras por HS-SPME foi otimizado utilizando um delineamento Plackett-Burman como metodologia para screening das variáveis que poderiam afetar a extração dos compostos voláteis da matriz vinho e, posteriormente, um delineamento experimental central composto foi aplicado para determinar as melhores condições de extração. O delineamento Plackett-Burman mostrou que, respectivamente, tempo de extração, temperatura do injetor (dessorção), temperatura de extração e concentração de cloreto de sódio (NaCl), foram as variáveis com maior efeito significativo sobre a eficiência de extração de compostos voláteis de vinhos. A aplicação da metodologia de superfície resposta evidenciou que as condições ótimas de extração de compostos voláteis usando fibra DVB/CAR/PDMS são tempo de extração de 55 minutos, temperatura do injetor em 265 °C, temperatura de extração em 56 °C e 30 % de NaCl. O método foi validado, apresentando boa linearidade nos intervalos de concentração testados, com coeficientes de correlação maiores que 0,9799 e satisfatória repetibilidade (1,01 % - 16,78 %).

DETERMINAÇÃO DE PESTICIDAS EM GRÃOS DE SOJA POR QUECHERS/ DLLME

Márcia Regina L. de Magalhães, Eliana Freire G. de C. Dores e Ricardo Dalla Villa

*Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT), Departamento de Química,
Laboratório de Análise de Resíduos de Biocidas (LARB); UNEMAT- PROEG
magalhaes.mrl@gmail.com*

Este trabalho teve por objetivo desenvolver e validar um método para determinação de clorpirifós, alfa-endossulfan, beta-endossulfan, sulfato de endossulfan, malationa, metolacloro, parationa-metílica, permetrina e trifluralina em grão de soja utilizando como procedimento de preparo de amostra o método QuEChERS combinado a microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME). A etapa de extração por QuEChERS foi feita pela adição de 10,0 mL de acetonitrila e 10,0 mL de água deionizada a 1,00 g da amostra soja triturada, seguido de agitação e adição de 2,00 g de sulfato de magnésio anidro e 1,00 g de NaCl. Após agitação e centrifugação, procedeu-se ao clean-up de 3,00 mL da fase nitrílica utilizando 0,250 g sulfato de magnésio e 0,250 g de alumina neutra ativada, seguido de agitação e centrifugação. O procedimento foi repetido uma vez. Após isto, a etapa DLLME consistiu na transferência de 1,00 mL do extrato para um tubo contendo 5,00 mL de solução aquosa de NaCl a 5% (m/v), seguido de adição de 100 µL de n-hexano, agitação e centrifugação, sendo recolhidos 40 µL da fase orgânica para determinação dos analitos por GC-MS. Foram avaliados o efeito do tipo de solvente extrator, do volume de solvente dispersor e da adição de sal (força iônica) sobre a extração dos analitos. Todos exerceram efeito significativo ($p = 0,05$) na extração por DLLME para a maioria dos analitos avaliados. A superposição de matriz foi o método mais adequado para calibração visto que a matriz exerceu efeito para a maioria dos analitos. O método proposto proporcionou porcentagens de recuperação entre 81 a 111% com coeficientes de variação (CV) de até 17%, exceto para permetrina para a qual foram obtidos CV de até 45%. Os limites de detecção e quantificação do método variaram de 2,60 a 46,6 µg/kg e de 5,00 a 100 µg/kg, respectivamente. O método foi aplicado a três amostras de grão de soja e nenhum dos pesticidas avaliado foi detectado. Os resultados obtidos indicam que o método proposto pode ser uma alternativa na determinação de pesticidas em soja. A associação dos métodos QuEChERS e DLLME propicia a redução do limite de quantificação do método, levando em consideração a quantidade de amostra utilizada. O método proposto é rápido, de fácil execução, e dispensa o uso de solventes clorados e equipamentos sofisticados para o preparo da amostra.

Agradecimentos: A Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT) e a Universidade do Estado de Mato Grosso (UNEMAT).

USO DE CORTIÇA COMO FASE EXTRATORA PARA A MICROEXTRAÇÃO COM BARRA ADSORTIVA

Adriana Neves Dias, Josias de Oliveira Merib,
Vanessa Simão, Eduardo Carasek

Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Departamento de Química, Brasil
eduardo.carasek@ufsc.br

Recentemente, o grupo de pesquisas do professor José Manuel Nogueira da Universidade de Lisboa introduziu uma nova técnica de preparo de amostras denominada como microextração adsortiva em barra (BA μ E, do inglês Bar adsorptive micro-extraction). Em BA μ E, materiais sólidos como carvões ativados e polímeros têm sido aplicados como fases extratoras para a extração de compostos com características polares. Este trabalho propõe o uso inédito do biosorvente cortiça como extrator para BA μ E. Os compostos estudados são conservantes (metil e etil parabeno) e produtos de cuidado pessoal (benzofenona e triclorocarbanilida), pois a persistência desses poluentes no meio ambiente é de grande preocupação com possível efeito na saúde dos seres humanos. Portanto, o objetivo do trabalho é o desenvolvimento de um método analítico baseado na BA μ E para determinação de conservantes e produtos de cuidado pessoal em água e detecção por Cromatografia Líquida com detecção por arranjo de diodos. Os procedimentos de extração e dessorção líquida para a BA μ E foram otimizados empregando metodologias univariadas e multivariadas. A etapa de dessorção líquida foi otimizada de forma univariada para a escolha do tempo e de forma multivariada (superfície triangular) para a escolha do solvente. A etapa de extração teve o pH (4,5; 5,5 e neutro) otimizado univariadamente e os parâmetros de tempo de extração (30 à 120 min.) e força iônica (0 a 35% de sal) avaliados via planejamento doehlert. A reprodutibilidade de produção das fibras foi verificada nas condições ótimas através da comparação dos resultados de extração para cada barra de extração. As melhores condições de extração foram pH de 5,5; 25% de sal, tempo de extração de 90 minutos; e para dessorção as condições ótimas foram 250 μ L (50:50, v/v) ACN:MeOH por 30 minutos. As barras de extração produzidas apresentaram bons resultados de reprodutibilidade. O estudo mostra o amplo uso da cortiça como fase extratora para microextrações livres de solventes, visto que nosso grupo de pesquisa já tem relatado na literatura seu emprego como sorvente para a microextração em fase sólida (SPME, do inglês solid-phase microextraction).

Agradecimentos: Ao CNPq e a UFSC.



OTIMIZAÇÃO DAS CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS DE UM NOVO PROCEDIMENTO PARA A MICROEXTRAÇÃO EM GOTA ÚNICA

Josias Merib, Adriana Neves Dias, Vanessa Simão, Eduardo Carasek

*Departamento de Química - Universidade Federal de Santa Catarina
Florianópolis - SC - Brasil – eduardo.carasek@ufsc.br*

A etapa de preparo de amostras constitui-se como base fundamental da química analítica. Em relação a essa importante etapa, podem ser destacadas as técnicas de microextração, as quais proporcionaram um marco no desenvolvimento no preparo de amostras. Suas principais características são o reduzido consumo de amostras e solventes tóxicos, melhora nos limites de detecção, fácil automação, integração em uma única etapa da amostragem, extração, concentração e introdução da amostra no equipamento analítico, e segurança nos resultados. A microextração com gota única, SDME (do inglês, single drop microextraction) situa-se como uma importante técnica de preparo de amostras a qual foi desenvolvida em meados da década de 1990. Convencionalmente, a SDME possibilita a extração dos analitos no modo de imersão direta (DI, do inglês direct immersion) ou no headspace (HS) da amostra. Neste trabalho foram desenvolvidas otimizações multivariadas utilizando-se planejamento composto central para a determinação das melhores condições experimentais da SDME para extração de compostos com ampla diferença de volatilidade em amostras aquosas, aplicando-se um novo modo de extração que engloba a utilização do modo DI e HS em um mesmo procedimento de microextração (DI-HS-SDME). Assim, há uma melhor condição para que compostos com diferentes volatilidades possam ser extraídos com eficiência, tendo em vista que a utilização da SDME com apenas um modo de extração facilitaria a extração ou de compostos mais voláteis, se fosse utilizado o modo HS; ou de compostos menos voláteis, caso o modo de DI fosse o preferido. Neste trabalho foi utilizado 1 μ L de 1-octanol como solvente extrator, sendo realizadas microextrações em amostras aquosas de 10 mL contendo vários compostos com diferentes volatilidades tais como BTEX, hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, pesticidas organoclorados e pesticidas organofosforados, com posterior separação/deteção por cromatografia a gás acoplada a espectrometria de massas. Foram otimizadas as condições para os modos de HS-SDME, DI-SDME e DI-HS-SDME, sendo otimizadas as variáveis tempo de extração, temperatura de extração e adição de solução salina com a finalidade de modificar a força iônica do meio. Para o modo DI-HS-SDME obteve-se como temperatura ótima de extração tanto para o procedimento HS como para o DI 35 $^{\circ}$ C, também foi otimizado o tempo total de extração como sendo 80 min sendo 40% desse tempo com a microgota em modo HS e o restante no modo DI, e a quantidade de 1,2 g de NaCl adicionada na amostra apresentou as melhores respostas.

Os autores agradecem a Universidade Federal de Santa Catarina e ao CNPq pelo auxílio financeiro o qual tornou esse trabalho possível.

DETERMINAÇÃO DE CONTAMINANTES EMERGENTES EM MATRIZES AQUOSAS POR HF-DLLME E DETECÇÃO POR HPLC-DAD

Daniela Lopes, Vanessa Simão, Adriana Neves Dias, Eduardo Carasek

*Departamento de Química- Universidade Federal de Santa Catarina
Florianópolis - SC - Brasil – eduardo.carasek@ufsc.br*

A proposta do projeto foi determinar contaminantes emergentes (metilparabeno, triclocarban, 3-(4-Metilbenzilideno)-Cânfora, 2,4-Diclorofenol e 2,4,6-Triclorofenol) usando como técnica de pré-concentração a DLLME (dispersive liquid-liquid microextraction) simultaneamente associada à membrana de fibra oca de polipropileno. Para o desenvolvimento da DLLME foi utilizado um sistema de solventes extrator:dispersor de hexano:acetona, além disso, na técnica de fibra oca foi utilizado a impregnação dos poros com solventes que facilitassem a migração dos analitos para o suporte sólido. Para a detecção dos contaminantes emergentes foi empregada a técnica de cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por arranjo de diodos. O preparo da amostra foi otimizado de forma univariada e a partir destas foram obtidas as condições ideais de trabalho. Inicialmente foram otimizados o uso ou não de recobrimento e do sistema de solventes extrator e dispersor. Logo após analisou-se os tipos de solventes para recobrimento da membrana, para tal utilizou-se iso-octano, tolueno, octanol e dodecanol. Estudou-se o emprego ou não da membrana em haste. A faixa de tempo de extração investigada foi de 15 a 60 min. Outro parâmetro analisado foi o pH da amostra, o qual foi variado em um intervalo de 3 a 6. No ensaio da força iônica foram testados 0%, 15% e 30% de adição de cloreto de sódio. Fez-se o estudo dos diferentes tipos de solventes extrator (hexano, tolueno e iso-octano) e dispersor (metanol, acetona e acetonitrila). Diferentes volumes de solvente extrator e dispersor em um intervalo de 50µL a 500µL forma estudados. Em seguida, analisou-se a proporção entre solventes extrator e dispersor em uma faixa de 1:10 a 1:4 (extrator:dispersor). Posteriormente, o tempo e volume de dessorção foram averiguados, variando estes em uma faixa de 10 a 20 min e 80 a 150µL, respectivamente. Através da análise das otimizações experimentais foram obtidas as condições ótimas de trabalho. A melhor resposta foi obtida com a utilização das duas técnicas (DLLME suportada pela membrana oca). Entre os tipos de solvente de recobrimento, o escolhido foi octanol. A condição da membrana com melhor resposta foi com o emprego da membrana totalmente suportada na haste de aço inoxidável. O tempo ideal para extração foi 45 min. A melhor resposta obtida foi com pH 4. No estudo da força iônica, o resultado ideal foi obtido com a utilização de 30% de sal. Os solventes extrator e dispersor que apresentaram uma melhor resposta dentre os testados foi o hexano e acetona, respectivamente. A proporção entre o solvente extrator e dispersor de 1:8 (extrator:dispersor) foi a que exibiu um melhor resultado. O volume de solvente extrator e dispersor que mostrou uma melhor resposta foi o de 50µL. No ensaio sobre o tempo de dessorção um maior resultado foi alcançado utilizando 15 min. O volume de dessorção ideal foi obtido com 100µL.

Agradecimentos: Ao CNPq e a UFSC.



MICROEXTRAÇÃO LÍQUIDO-LÍQUIDO DISPERSIVA SUPORTADA POR MEMBRANA OCA PARA ANÁLISE DE AFLATOXINAS

Vanessa Simão, Adriana Neves Dias, Josias de Oliveira Merib, Eduardo Carasek

Universidade Federal de Santa Catarina, Departamento de Química, Florianópolis - SC
eduardo.carasek@ufsc.br

Este estudo descreve uma nova metodologia para determinação de aflatoxinas – AFL - (B1, B2, G1 e G2) em suco de soja utilizando o acoplamento entre duas técnicas de microextração diferentes: extração líquido-líquido com membrana microporosa (MMLLE) e microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME). O diferencial da técnica é a não utilização de solvente clorado para a extração das toxinas, além da utilização de quantidades pequenas de solventes orgânicos. As AFL foram detectadas através de cromatografia líquida de alta eficiência com detector de fluorescência (HPLC-FD). Vários parâmetros analíticos foram otimizados utilizando planejamentos univariados e multivariados. As variáveis otimizadas de maneira univariada foram: recobrimento da membrana de polipropileno (PP), sistema de solventes da DLLME, proporção entre solvente extrator e dispersor da DLLME, sistema de solventes para dessorção e tempo de dessorção. Já as variáveis otimizadas por meio de planejamento multivariado foram: tempo de extração, adição de sal e volume total de solventes orgânicos para DLLME. As condições ótimas para o compromisso dos quatro analitos foram: n-octanol para recobrimento da membrana de PP; solvente extrator tolueno e dispersor acetona, na proporção de 1:5, respectivamente; volume total de 100 uL para cada amostra deste sistema; tempo de extração 60 minutos, concentração de 2% de NaCl, 150 uL de acetonitrila:água (50:50) para dessorção por 20 minutos. A faixa linear de trabalho estudada foi de 0,03-6 $\mu\text{g L}^{-1}$ para AFB2 e AFG2 e 0,1-17 $\mu\text{g L}^{-1}$ para AFB1 e AFG1, com coeficientes de determinação (R^2) para AFB1, AFB2, AFG1 e AFG2 entre 0,9940 – 0,9995. Os limites de detecção (LOD) variaram entre 0,01-0,03 $\mu\text{g L}^{-1}$ e os limites de quantificação (LOQ) 0,03-0,1 $\mu\text{g L}^{-1}$. Os testes de recuperação foram avaliados em dois níveis para cada AFL e variaram entre 70-115%, a repetibilidade e precisão intermediária foram verificadas em três níveis e variaram entre 79-120% com desvios padrões relativos (RSD) < 15%. Os resultados demonstraram que a metodologia proposta é rápida, barata, não trabalhosa, ambientalmente correta e eficiente para a determinação de AFL em sucos de soja de maçã. Além disso, o método proposto oferece potencial para automatização, análise de outros analitos e aplicação em outras matrizes.

Agradecimentos ao Departamento de Química da UFSC e ao CNPq.

DEVELOPMENT A LIQUID PHASE MICROEXTRACTION METHOD WITH HOLLOW FIBER HF-SBSE FOR ANALYSING OF ORGANOCHLORINE COMPOUNDS IN WATER SAMPLES BY GC-ECD

JA Fiscal L¹, L Correa C¹, S Ceballos L², A De la Ossa S²;
G Taborda O¹, M Rosero-Moreano^{1*}

¹Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Departamento de Química Grupo GICTA,
Universidad de Caldas, Manizales, Colombia AA. 275

²Laboratorio de Salud Pública, Dirección Territorial de Salud de Caldas DTSC

*E-mail: milton.rosero@ucaldas.edu.co

Has been developed a liquid phase microextraction method that involves the coating of a small metallic piece with polypropilene hollow fiber that had worked as a stir bar, this system we have coined the name “HF-SBSE” from “hollow fiber-stir bar sorption extraction”. From this, the aim of this work is the microextraction of organochlorine compounds from water samples, catalogued as “emerging contaminants”¹ with a proven high risk to human health. For the microextraction method HF²-SBSE, was used 1-octanol as organic extraction solvent (50 µL), the solvent was filled into the lumen of an hollow hydrophobic trade mark fiber with the next characteristics: accurel PP 300/1200 (GmbH Polypore Cia, Germany) film thickness 300µm, pore size 0,2µm, ID 1,2mm and specific superficial area close to 17,3 m² g⁻¹ with a 3 cm of lenght (see figure 1) (sealed by mechanical pressure in both edge); in addition was inserted a small metallic piece of a 1 cm of length into the lumen of hollow fiber that had served as stir bar, this assembly was introduced into a spiked sample water flask under the next conditions: was stired to 700 r.p.m. at 40 °C of extraction temperature during 30 min., to enhance the ionic activity and promote the extraction was added NaCl 6 %. After doing the microextraction was cut one either of conditioned hollow fiber edge and with help of an Hamilton GC mycrojeringe (10 µL) was recovered 1 µL of extract for manual injection into a gas chromatograph equipped with an electron capture detector (GC-ECD)¹.

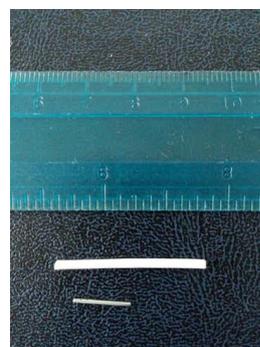


Figure 1. Laboratory assembly HF-SBSE: Left- hollow fiber lumen refilled with extraction solvent. Right – lenght of HF and metallic piece stir.

References:

¹Rosero-Moreano M., et al. 2012. Water Air and Soil Pollution, 223, 2, 667-674.

²Rosero-Moreano M., et al. 2014. J. Sep. Sci., 37, 3, 272-278.

Aknowledgments: the authors thanks the hard cooperation with the Laboratory of Public Health of Caldas.



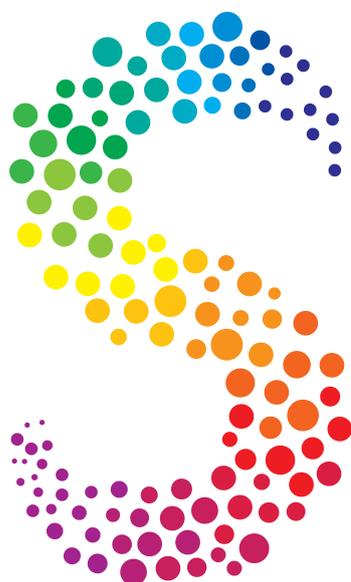
EXTRAÇÃO ON-LINE ACOPLADA À CROMATOGRAFIA LÍQUIDA (OLE-LC): UMA ESTRATÉGIA PARA ANÁLISE DIRETA

Vinícius G. Ferreira^{1*}, Gabriel M. Leme¹, Cristiano S. Funari¹,
Alberto J. Cavalheiro¹

¹Instituto de Química, UNESP, 14800-600 Araraquara, São Paulo, Brasil
ferreiravg@iq.unesp.br

Ao longo dos anos diferentes maneiras de preparo de amostras foram sendo desenvolvidos com diferentes finalidades, sejam elas de extrair maior número de analitos, concentrar analitos alvos, remover interferentes ou aumentar rendimentos. No entanto, com o surgimento do campo da metabolômica, a miniaturização do preparo de amostras vem se tornando cada vez mais recorrente, buscando cada vez mais maneiras e estratégias de preparo de amostras que modifiquem minimamente a amostra. No caso dos estudos metabolômicos, o preparo de amostras é uma etapa crucial, visto que a interpretação biológica dos dados depende fortemente dos constituintes da amostra e, conseqüentemente das estratégias de extração e preparo de amostras empregados. Infelizmente pouca atenção é dada ao desenvolvimento de novos métodos de preparo de amostras, capazes de extrair uma ampla variedade de metabólitos, em quantidades detectáveis e que gerem uma amostra compatível com as ferramentas analíticas para aquisição de dados. Graças a essa deficiência, hoje em dia a maioria dos estudos de produtos naturais envolve a extração off-line das matrizes com diferentes solventes, visando extrair a maior faixa possível de analitos. Porém, muitas vezes os solventes empregados são nocivos ao meio ambiente e/ou ao próprio analista, tornando cada vez mais necessário o avanço na tecnologia de preparo de amostras. Visando facilitar o processo de extração abrangente, estamos propondo uma maneira de unir as etapas de extração, separação e detecção em série, tornando o processo de análise mais rápido e mais ecológico, evitando o uso de solventes extrator. Isto foi possível através da inclusão de uma câmara extratora de amostra sólida no circuito de amostragem; de modo a que a extração dos metabolitos dos tecidos das plantas é realizada pela própria fase móvel cromatográfica em modo de gradiente e indo diretamente para a análise cromatográfica, sem a necessidade de qualquer etapa de concentração dos analitos. Para verificar sua aplicabilidade, esta estratégia integrada foi aplicada para obter os perfis cromatográficos de diferentes órgãos de plantas (Folhas, sementes, flores e raízes) e posteriormente comparados com os perfis cromatográficos dos extratos obtidos por procedimento off-line. Como resultado, os perfis cromatográficos de material vegetal extraído em linha (on-line) são semelhantes àqueles que utilizam a extração off-line, evidenciando o potencial do presente processo para a obtenção de perfis metabólicos para diferentes finalidades, entre elas o controle de qualidade obtenção de fingerprints de amostras vegetais. Além disso, nossos experimentos sugerem que o processo de extração on-line além de mais ecológico e mais rápido, é também mais eficaz.

Agradecimentos aos projetos e instituições: CEPID-FAPESP, CECAA/SISBIOTA-CNPq/FAPESP, IQ-UNESP.



SEÇÃO N



PURIFICAÇÃO DE L-ASPARAGINASE FÚNGICA POR CROMATOGRAFIA DE TROCA IÔNICA

Fernanda Furlan Gonçalves Dias, Hélia Harumi Sato

Laboratório de Bioquímica de Alimentos, Faculdade de Engenharia de Alimentos- FEA,

Universidade Estadual de Campinas -UNICAMP

ferfgd@fea.unicamp.br

As reações de Maillard são responsáveis pela formação de cor e de compostos de aroma em produtos amiláceos fritos ou assados. As mesmas reações que tornam esses alimentos saborosos e atrativos resultam na formação de acrilamida, um potencial cancerígeno humano^[1]. Os métodos mais eficazes para reduzir a formação de acrilamida são baseados na remoção de precursores como o aminoácido L-asparagina. Esse aminoácido pode ser removido com o uso da L-asparaginase, uma enzima capaz de realizar a hidrólise seletiva da asparagina formando ácido aspártico e amônia^[2]. O objetivo deste trabalho foi estudar a purificação da L-asparaginase obtida da linhagem fúngica de *Aspergillus oryzae* CCT 3940. A L-asparaginase foi purificada utilizando-se as colunas de troca iônica Q Sepharose™ Fast Flow, SP Sepharose™ Fast Flow e CM Sepharose™ de 1 mL de volume (dimensões: 0,7 x 2,5 cm) e o equipamento Fast Flow Fast Protein Liquid Chromatography-FPLC da Pharmacia, Freiburg (Alemanha). Após a eluição em cada coluna as frações (2 mL) com atividade enzimática de L-asparaginase foram reunidas e dialisadas contra água destilada por 24h e concentradas por liofilização. A fase móvel utilizada foi tampão Tris HCl pH 8,0, 0,05 M com gradiente NaCl 1M (0 a 100%) diluído no mesmo tampão para a completa eluição das proteínas. A vazão empregada durante a corrida foi de 1 mL/min e a absorbância foi monitorada a 280 nm. A enzima foi purificada cerca de 26,9 vezes com rendimento de 65 %. A L-asparaginase purificada de *Aspergillus oryzae* CCT 3940 apresentou atividade específica 86 U/mg de proteína e massa molecular estimada em 116 kDa por eletroforese em gel de poliacrilamida (12 %) (SDS-PAGE).

Referências:

[1] TAREKE, E., RYDBERG, P., KARLSSON, P., ERIKSSON, S. e TORNQVIST, M. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 50, p. 4998-5006, 2002.

[2] CAPUANO, E., FERRIGNO, A., ACAMPA, I., AIT-AMEUR, L. e FOGLIANO, V. *European Food Research and Technology*, v. 228, p. 311-319, 2008.

Agradecimentos: Os autores agradecem a Fapesp pelo financianento da pesquisa e ao CNPq pela concessão da bolsa de doutorado.

CARACTERIZAÇÃO DE UMA NOVA FASE PARA CLAE BASEADA NA IMOBILIZAÇÃO DE POLI(ETILENIMINA) SOBRE SÍLICA

Samia R. Dib (PG)^{1*}, Anizio M. Faria (PQ)²

¹Departamento de Química, Universidade Federal de São Carlos- São Carlos- SP

²FACIP, Universidade Federal de Uberlândia- Ituiutaba- MG

*saminha_dib@yahoo.com.br

A atividade silanofílica de fases estacionárias reversas na análise de compostos polares e, principalmente, substâncias básicas tem sido um problema histórico e de difícil solução na cromatografia líquida. Diversas estratégias para o preparo de fases estacionárias têm sido delineadas nos últimos anos para contornar essas limitações. Nesse trabalho, uma nova estratégia de preparo de fase estacionária foi avaliada a partir da imobilização térmica a 120°C por 12 h de poli(etilenimina) sobre sílica, seguida de capeamento com grupos C18 sob refluxo de tolueno por 48 h. Os grupos amino da poli(etilenimina) possuem a capacidade de competir com os grupos residuais (SiOH) das fases pelos solutos polares, enquanto o C18 garante a seletividade hidrofóbica necessária para a separação desses compostos. As propriedades dessas fases foram avaliadas por caracterização físico-química e cromatográfica a partir de protocolos de misturas testes padrão. Os protocolos empregados nesse trabalho foram desenvolvidos por Tanaka e colaboradores e Engelhardt & Jungheim e tratam-se de métodos bem estabelecidos para avaliar a qualidade das fases estacionárias. Esses protocolos são constituídos de misturas testes que são separadas em diferentes condições de fase móvel e fornecem informações sobre seletividade hidrofóbica, seletividade estérica, capacidade de ligação de hidrogênio, capacidade de troca iônica e acidez superficial. Os resultados obtidos pela mistura de Tanaka indicaram que a fase Si(PEI)C18 é uma fase estacionária reversa para CLAE que possui uma camada polimérica de baixa hidrofobicidade (fator de retenção para pentilbenzeno de 1,31, enquanto fases convencionais apresentam valores > 4), permitindo análises mais rápidas que em fases reversas convencionais, com a grande vantagem de apresentar um recobrimento eficiente da superfície da sílica devido à presença dos grupos C18. A baixa hidrofobicidade da fase Si(PEI)C18 permite a separação de compostos altamente hidrofóbicos com fases móveis com maiores teores de água que fases C18 convencionais. Esse grau de recobrimento da superfície do suporte faz com que a fase Si(PEI)C18 apresente uma reduzida atividade silanofílica ($\alpha_{B/P}$ a pH 7,60 = 0,65) e uma acidez superficial ($\alpha_{B/P}$ a pH 2,70 = 0,65) inferior à de fases disponíveis comercialmente. As aplicações mais úteis para a fase estacionária preparada nesse trabalho envolvem compostos aromáticos que possuam diferentes quantidades de anéis em sua estrutura, promovendo separações rápidas e com baixo percentual de solvente orgânico na fase móvel. As fases apresentam também boa estabilidade dos parâmetros de retenção entre diferentes análises, não ocorrendo qualquer variação nesses parâmetros com o decorrer das análises. Uma aplicação bastante útil da fase Si(PEI)C18 foi a separação rápida de mistura de peptídeos, empregando fase móvel com alto teor aquoso e pouca interação residual.

FAPEMIG, LabCrom (IQ-UNICAMP), RQ-MG e PROPP/UFU.



EVALUATION OF THE PHARMACEUTICAL EQUIVALENCE AND DISSOLUTION PROFILES OF CAPTOPRIL TABLETS

Anny Karolinny A. Dourado; Eduardo B. Lages;
Simone B. de Oliveira; Cristiane A. da Fonseca

*State University of Goiás, Anápolis - GO, Brazil
karolinnydourado@hotmail.com.br*

Hypertension is a chronic disease characterized by high prevalence, low rates of adhesion and control in addition to high economic and social costs, mainly due to its complications. Pharmacological treatment is presented as the most effective way to control blood pressure, specially captopril as a vasodilator that acts on the inhibition of angiotensin converting enzyme. This work aimed to compare, through the study of pharmaceutical equivalence and dissolution profiles, a generic drug Captopril 25 mg, distributed in Goiânia public health, with the reference drug Captosen® 25 mg. The following tests were performed: identification, weight variation, disintegration, hardness, friability, assay, limit of captopril disulfide, uniformity of dosage units, dissolution and dissolution profile. Analyzes were performed in accordance with the general methods and the monograph of captopril tablets, described in the Brazilian Pharmacopoeia 5th edition. The identification test was performed by thin-layer chromatography using silica gel as support and a mixture of toluene, glacial acetic acid and methanol (75:25:1, v/v/v) as eluent. After elution, the plate was dried in air and nebulized with mercuric diphenylcarbazone as revelation solution. The assay and limit of captopril disulfide were performed on a Merck Hitachi® chromatographic system and the separation was performed using an Zorbax® SB-C18 (250 x 4.6 mm id, 5µm, Agilent) analytical column. Isocratic elution was carried out with a mobile phase consisting of the mixture of 0.11% phosphoric acid and methanol (45:55, v/v). The flow was 1.0 mL/min and the injection volume of 20 µL. Captopril was detected at 220 nm using diode array detector. The content uniformity and dissolution analyzes were performed on Agilent® spectrophotometer. 0.1N hydrochloric acid at 37 °C was used as dissolution medium. The basket apparatus at 50 rpm was used and the dissolution time was 20 minutes. Dissolution profile aliquots of the samples were collected and the absorbance measurements were carried out at 212 nm, using the dissolution medium as blank. The results were satisfactory for all analyzes performed. In the identification test, the principal spot obtained from the reference drug (R) and generic drug (G) corresponded in position, color and intensity to that obtained from the standard solution. The results of assay (R = 97.13% and G = 100.65%), limit of captopril disulfide (R = 0.74% and G = 1.00%), content uniformity (R = 102.6%; AV = 5.6 and G = 106.7%; AV = 7.0) and dissolution (R = 103,04% and G = 101,50%) were satisfactory. For the dissolution profiles, both R and the G presented a rapid dissolution and the drugs showed more than 85% of captopril dissolved within 15 minutes. The results demonstrate pharmaceutical equivalence between both formulations, suggesting the interchangeability.

Acknowledgements: The authors thank Brainfarma.

EFEITO DA POTÊNCIA DE RADIAÇÃO MICROONDAS NA IMOBILIZAÇÃO DE PDAS SOBRE SÍLICA COMO FASE PARA CLAE

Giselle de O. Carvalho^{1*}, Carla G. A. Silva², Anizio M. Faria¹

¹Química- FACIP, Universidade Federal de Uberlândia, Ituiutaba, MG

²LabCrom, Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP

gisellecarvalho@qui.pontal.ufu.br

A preparação de fases estacionárias a partir da imobilização de polímeros sobre sílica tem sido uma alternativa às fases quimicamente ligadas, pois o polímero recobre uma maior extensão dos grupos ativos da superfície do suporte. O método de imobilização mais empregado tem sido o tratamento térmico, no entanto, o longo tempo de exposição do polímero à temperaturas elevadas pode resultar em alterações de suas propriedades físicas, afetando o desempenho e repetibilidade das fases. A radiação micro-ondas, empregando forno convencional, pode ser uma alternativa, eficiente, simples e de baixo custo na preparação de fases para cromatografia líquida de alta eficiência. Neste trabalho uma nova proposta de preparo de fase estacionária para é apresentada pela imobilização do polímero poli(dimetil-co-alquilmetilsiloxano), (PDAS), sobre partículas de sílica, empregando radiação micro-ondas. O efeito da potência de radiação foi avaliado na imobilização do PDAS sobre sílica, avaliando suas características físico-químicas e cromatográficas. As fases Si(PDAS) foram imobilizadas por 10 min em diferentes potências de radiação micro-ondas: 900W, 720W e 540W, utilizando um forno micro-ondas comercial convencional. As fases foram caracterizadas cromatograficamente a partir da separação de misturas testes de um protocolo padrão, desenvolvido por Tanaka e colaboradores. As fases Si(PDAS) preparadas em diferentes condições de imobilização foram submetidas à análise elementar para a determinação da porcentagem de carbono, obtendo cargas de 12,0; 11,9 e 5,7% para as fases imobilizadas a 900, 720 e 540W, respectivamente. A maior diferença ocorreu para potência mais baixas 540W, correspondendo a 60% da potência máxima, que resultou em menos de 50% da carga de PDAS. Os resultados cromatográficos indicaram que as fases Si(PDAS) imobilizadas a 80% (720W) e 100% (900W) de potência apresentaram maior eficiência de separação que nas demais condições, resultando em fases com baixa hidrofobicidade, mas com elevada seletividade hidrofóbica ($\alpha_{CH2} = 2,21$), quando comparadas com fases C18 comerciais. Além disso, as fases Si(PDAS), de uma forma geral, apresentaram baixa retenção para o pico da benzilamina tanto em pH 2,70 ($\alpha_{B/P} = 0,58$) quanto em pH 7,60 ($\alpha_{B/P} = 1,00$), indicando um recobrimento eficiente da superfície da sílica com a imobilização via radiação micro-ondas. Conclui-se, portanto, que a radiação micro-ondas é eficaz na imobilização do polissiloxano PDAS sobre o suporte, e mesmo em tempos curtos de exposição, potências de 80% de radiação resultam em materiais eficientes para separações cromatográficas.

Agradecimentos: FAPEMIG, CNPq e LabCrom/IQ-Unicamp.



ALTERAÇÕES NO PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS E NA COR DE ÓLEO USADO EM FRITURA DE DIFERENTES ALIMENTOS

Inês Aparecida Santana, José Luiz Fejfar, Antonia Miwa Iguti

Praça Mauá, nº 01- São Caetano do Sul - SP - CEP 09580-900

amiguti@maua.br

O objetivo deste trabalho foi comparar os ácidos graxos presentes e a variação de cor em óleos de soja utilizados na fritura de três diferentes produtos: pastéis, almôndegas e nuggets. A fritura (duplicata) foi realizada a 180 °C por 50 minutos em cinco ciclos de aquecimento/resfriamento. Cada amostra foi saponificada e analisada por GC-MS, utilizando coluna capilar DB-5ms. Os ácidos graxos foram identificados por meio de comparação com a biblioteca NIST e padrões de ésteres metílicos de ácidos graxos. Para efeito de comparação também foram analisados o óleo inicial e o óleo submetido a aquecimento sem adição de alimento. Os ácidos naturalmente predominantes no óleo de soja, C18:2 (ácido linoleico, com cerca de 50%; C18:1 (ácido oleico, com cerca de 26%) e o C18 (ácido esteárico, com cerca de 4%), não aumentaram nem diminuíram significativamente, seja pelo aquecimento, seja pela presença dos alimentos durante a fritura. É importante esclarecer que a coluna utilizada não permitiu a separação dos ácidos linoleico, alfa-linolenico e linolelaídico, não sendo possível afirmar sobre a presença ou ausência desses dois últimos nos óleos analisados. Não foi detectado o ácido gama-linolenico. A concentração de alguns ácidos graxos presentes em pequenas quantidades no óleo inicial não apresentaram diferença seja pelo aquecimento, seja pela presença dos alimentos. São eles: C15:0, C16:0, C17:0, C18:1, C20:0, C21:0, C22:0, C23:0, C24:0, C20:1, C20:2 e C22:1. O simples aquecimento ocasionou aumento significativo do teor de C16:1 (ácido palmitoleico) e C8 (ácido caprílico), sendo que em ambos casos a presença dos alimentos não alterou significativamente seu teor. Foram detectados traços de C13:0 (ácido tridecanóico) e C22:2 (ácido docosadienóico) nos óleos aquecidos com pastéis e almôndegas, ainda que as diferenças não foram estatisticamente significativas quando as concentrações foram comparadas com as demais. Tomando como referência o óleo aquecido, houve aumento significativo de C10:0 (ácido cáprico) e C14:0 (ácido mirístico) no óleo aquecido com pastéis. No óleo aquecido com nuggets, não foi detectado C10:0 e o C14:0 não foi alterado, mas houve aumento significativo do C12 (ácido láurico). Já o óleo aquecido com almôndegas não apresentou diferença significativa quanto ao teor de C10:0 e C12:0, enquanto que os teores de C14:1 (ácido miristoleico) e C14:0 aumentaram significativamente em relação ao óleo aquecido. Quanto às análises colorimétricas, os resultados mostraram que o óleo aquecido com almôndegas apresentou escurecimento (L^*) superior aos demais e maior aumento do valor de b^* (predominância do amarelo). Pode-se concluir que o aquecimento brando e curto tempo já são suficientes para serem detectadas alterações estatisticamente significativas no perfil de ácidos graxos dos óleos. Além disso, a alteração nos parâmetros de cor depende do tipo de alimentos utilizado na fritura.

ESTUDO TEÓRICO DO MECANISMO DE SEPARAÇÃO QUIRAL DO 4-HIDROXIPROPRANOLOL USANDO CARBOXIMETIL-BETA-CD

Nascimento Jr., C.S.¹; Lopes, J. F.²; Guimarães, L.¹; Borges, K. B.¹

¹Departamento de Ciências Naturais, Universidade Federal de São João del-Rei

²Departamento de Física e Química, Universidade Federal de Itajubá

keyller@ufsj.edu.br

O objetivo deste trabalho foi estudar, em nível molecular, o mecanismo de separação enantiomérica do 4-hidroxiopropranolol (4-OH-Prop) com a carboximetil- β -ciclodextrina (CM- β -CD), utilizando uma metodologia teórica sequencial baseada em: (i) Dinâmica Molecular (DM), (ii) Método semi-empírico (PM3) e (iii) Teoria do Funcional da Densidade (BLYP). Como resultado, mostrou-se, por meio de uma análise estrutural sistemática, que as ligações de hidrogênio estabelecidas entre a 4-OH-Prop e a CM- β -CD desempenham um papel importante na estabilidade dos complexos de inclusão estudados. A espécie (+)-(R)-4-OH-Prop/CM- β -CD apresentou três fortes ligações de hidrogênio intermoleculares. Além disso, pode-se concluir também que o processo de inclusão da 4-OH-Prop realizado pelo lado maior da cavidade da CM- β -CD é termodinamicamente mais estável, em comparação ao processo de inclusão realizado pelo lado menor da cavidade, tanto na fase gasosa, quanto na fase aquosa, à 1 atm e 298K. Esta diferença encontrada nos valores da variação da energia livre de Gibbs dos complexos de inclusão fármaco/CM- β -CD é provavelmente uma medida da discriminação quiral, o que resulta na separação dos enantiômeros, como já havia sido observado previamente em resultados experimentais. Finalmente, pode-se concluir, que o modelo teórico sequencial proposto mostrou boa capacidade de predição da separação quiral dos enantiômeros da 4-OH-Prop, bem como foi capaz de estimar qualitativamente o mecanismo de reconhecimento quiral.

Agradecimentos: CNPq, FAPEMIG, CAPES e Rede Mineira de Química.



DETERMINAÇÃO DE AMINOÁCIDOS LIVRES EM PRODUTOS CÁRNEOS MATURADOS POR CG/DIC

Donadel, J. Z.; Ribeiro, S. R.; Vendruscolo, R.G.; Klein, B.; Wagner, R.

Universidade Federal de Santa Maria - Av. Roraima, nº 1000,

Cidade Universitária, 97105-900, Santa Maria, RS, Brasil

e-mail: rogerwag@gmail.com

A determinação de aminoácidos livres (AAL) em alimentos é importante para relacionar as transformações químicas e bioquímicas nessas matrizes. Além da importância nutricional, esses compostos podem ser considerados precursores na formação de aroma e sabor característico de alguns produtos alimentícios, como os produtos cárneos fermentados/maturados. A cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) é a técnica comumente utilizada para esse tipo de análise. Entretanto, a cromatografia em fase gasosa associada à detecção por ionização em chama (CG/DIC) pode ser uma alternativa viável para a análise de AAL, uma vez que possibilita obter resultados com alta resolução, sensibilidade e seletividade em comparação à CLAE. O objetivo desse trabalho foi determinar o perfil de AAL presentes em amostras de presunto Tipo Parma (PTP) e salame Tipo Italiano (STI) por CG/DIC. As amostras foram desproteinizadas, submetidas à secagem a 60 °C e derivatizadas com N-metil-N-tert-butildimetilsiltrifluoroacetamida (MTBSTFA) a 100 °C por 1h e posteriormente analisadas em CG/DIC (Varian Star 3400, EUA). Os analitos foram separados em coluna capilar Rtx-5MS Restek (Bellefont, EUA) de sílica fundida (30 m x 0.25 mm x 0.25 µm). A programação da rampa de temperatura iniciou em 170 °C/5 min, 4 °C/min até 290 °C/1min, 20 °C/min até 325 °C, permanecendo em isoterma por 15 min. O gás de arraste utilizado foi o H₂ com pressão constante de 12 psi a uma vazão inicial de 1,1 mL min⁻¹. Os compostos foram determinados por comparação dos tempos de retenção dos picos das amostras com os dos picos de padrões (1, 5, 10, 20, 40, 80 e 160 µg/mL) contendo 23 aminoácidos derivatizados. A concentração dos diferentes aminoácidos foi calculada a partir da curva padrão dos aminoácidos puros e derivatizados, preparados e analisados em condições idênticas às amostras. Foram determinados 20 AAL em ambos os produtos cárneos. O PTP apresentou um total de 187,99 mg/100g, sendo que os majoritários foram Trp, Arg, Ala, Ile, Val, Phe, Leu, Pro (11,03; 11,98; 12,62; 16,33; 18,59; 19,03; 19,94 e 21,97 mg/100g de amostra, respectivamente), enquanto que o STI apresentou 282,03 mg/100g de AAL, sendo que Leu, Phe, Glu, Ala, Val e Arg foram encontrados majoritariamente, com concentrações de 11,95; 13,55; 15,91; 18,99; 65,59 e 80,48 mg/100g de amostra, respectivamente. A combinação de AAL como Ala, Val, Leu, Trp, Glu oriundos de atividade proteolítica enzimática contribui para a formação do sabor e aroma característicos do PTP e STI. Além disso, pode haver correlação positiva entre o tempo de maturação e maiores concentrações de Trp, Phe, Leu e Pro em PTP, já que o produto final possui maior período de maturação. A determinação de AAL por CG/DIC foi considerada uma alternativa interessante e possui potencial para se tornar uma análise de rotina para o controle de qualidade em alimentos, especialmente em produtos cárneos maturados.

Agradecimentos: CAPES, CNPq-PIBIC, FIPE Júnior.

VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA ANALÍTICA PARA RIVASTIGMINA CÁPSULA POR CROMATOLOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA (CLAE)

Iara Coutinho Desmarais; Mara Fernandes Ribeiro; Aline Rocha

Instituto Vital Brazil (IVB) - Rua Maestro José Botelho nº 64, Vital Brazil – Niterói/RJ

iaradesmarais@yahoo.com.br

A validação garante, através de estudos experimentais, que o método atenda os requisitos analíticos, assegurando a confiabilidade dos resultados. O objeto de estudo é o medicamento Rivastigmina, utilizado para o tratamento de pacientes portadores da doença de Alzheimer. O objetivo deste trabalho é demonstrar que o método para determinação do teor e impurezas de Rivastigmina, realizado por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) em fase reversa e detecção por ultravioleta, é adequado para a finalidade pretendida. Por tratar-se de método descrito em compêndio oficial, foram avaliados apenas os seguintes parâmetros de performance: Especificidade para análise de Teor e Impureza, Linearidade e Precisão nos níveis de Precisão Intermediária e Repetibilidade para Teor, e Limite de Detecção para Impurezas. Nos estudos foram preparadas soluções padrões, amostras, placebos e eluentes. De acordo com os resultados foi verificada a especificidade nos cromatogramas obtidos do placebo e da substância ativa. Os critérios de aceitação foram totalmente atendidos, pois os picos nos tempos de retenção dos constituintes da formulação não interferiram no tempo de retenção da Rivastigmina, comprovando-se a especificidade do método para análise de determinação de teor e impurezas. A linearidade refere-se a capacidade do método de gerar resultados linearmente proporcionais a concentração do analito, enquadrados em faixa analítica especificada. A partir de uma solução mãe de Rivastigmina, foi preparada uma solução com concentração de 130% do limite especificado para a Rivastigmina como limite superior da curva, e como limite inferior da curva foi usada uma concentração de 70%. As soluções de placebo contaminadas foram preparadas em triplicata nos níveis de concentração 70%, 80%, 90%, 100%, 110%, 120% e 130%, sendo que o desvio padrão relativo entre os resultados de cada concentração não foi superior a 2%. A partir dos resultados obtidos na linearidade foi obtida a curva com coeficiente de regressão linear igual a 0,99. A precisão foi avaliada através da proximidade dos resultados obtidos em uma série de medidas de uma amostragem múltipla de uma mesma amostra. Foram avaliados dois níveis de precisão: repetibilidade, conduzida em seis determinações do placebo contaminado a 100%, e precisão intermediária, conduzida da mesma forma em equipamento diferente e por outro analista. O Limite de detecção é a menor quantidade do analito presente em uma amostra que pode ser detectado, porém não necessariamente quantificado, sob as condições experimentais estabelecidas. Determinou-se o ruído da linha de base e foi considerada como Limite de Detecção a concentração de 0,64 µg/mL, que produziu relação sinal-ruído superior a 3:1. Foram preparadas duas concentrações abaixo e duas acima desta concentração para assegurar este limite. Os resultados foram satisfatórios para determinação do teor e a metodologia validada, sendo: específica, linear e precisa. Também foram satisfatórios para determinação de Impurezas, sendo específica para esta metodologia.

Agradecimentos: Antônio Joaquim Werneck de Castro, Diretor Presidente do Instituto Vital Brazil; Luís Eduardo Ribeiro da Cunha, Diretor Científico; Celina Rocha Filgueiras, Gerente do Controle de Qualidade; Isabella Piazza, Chefe do Departamento de Controle Químico; e Antônia Maria Cavalcanti de Oliveira, Assessora Especial do Centro de Estudo e Aperfeiçoamento.



AVALIAÇÃO DA DISSOLUÇÃO DE CÁPSULAS GELATINOSAS POR CROMATOGRÁFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA (CLAE)

Aline Rocha; Iara Coutinho Desmarais; Mara Fernandes Ribeiro

Instituto Vital Brazil (IVB) – Rua Maestro José Botelho nº64, Vital Brazil – Niterói/RJ

aline_farma@outlook.com

Devido à sua versatilidade, facilidade de produção, aceitabilidade pelo paciente e ao custo, as cápsulas gelatinosas duras constituem uma das formas farmacêuticas mais comercializadas nos estabelecimentos de manipulação e indústria de medicamentos. O teste de dissolução se destina a demonstrar que o produto atende às exigências constantes na monografia do medicamento em comprimidos, cápsulas e outros casos em que seja requerido. A dissolução é uma ferramenta muito importante para caracterizar o desempenho de um medicamento. Esta possibilita determinar a quantidade de substância ativa dissolvida no meio de dissolução quando o produto é submetido à ação de aparelhagem específica, sob condições experimentais descritas. Outros componentes também podem estar dissolvidos no meio e serem detectados pelo método analítico utilizado. A detecção de outros componentes, além da substância ativa, não é interessante, de forma que outros picos podem interferir na análise cromatográfica. O objetivo deste trabalho é demonstrar que a cápsula gelatinosa dissolvida no meio pode ser detectada por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Após a análise por CLAE, diversos lotes de quatro tipos de cápsulas gelatinosas nº 3, de cores diferentes, apresentaram um pico cromatográfico diferente do pico da substância ativa. Para a realização das análises em dissolutor, foi adicionado como meio de dissolução 500 mL de água destilada degaseificada em cada cuba e após atingir a temperatura de 37°C, foram colocadas cápsulas vazias e cápsulas contendo a substância ativa em cubas diferentes. Após decorridos 30 minutos de dissolução, alíquotas de cada amostra foram coletadas com seringa conectada a cânula coletora e posteriormente filtrada para diferentes frascos (vials), utilizando filtros de 0,45 µm. Foi preparada uma solução padrão com concentração conhecida da substância ativa e como branco foi utilizado o meio de dissolução, em seguida ambos foram filtrados para diferentes vials. A sequência de análise no cromatógrafo foi iniciada pela injeção do branco, seguida pela amostra da cápsula vazia, solução padrão e amostra de cápsula cheia. A corrida cromatográfica de 20 minutos apresentou um pico nas amostras de cápsulas vazias e das cápsulas cheias, que não foi detectado na corrida do branco e da solução padrão. Este pico aparece logo após a saída do volume morto, aos 4 minutos de corrida, já a substância ativa foi detectada aos 13 minutos. As quatro cápsulas de cores diferentes testadas apresentaram o mesmo perfil cromatográfico, sendo o pico referente a cápsula eluído com o mesmo tempo de retenção para cada uma. Os resultados demonstraram que o processo de dissolução da cápsula vazia libera componentes que podem ser detectados por CLAE, utilizando a mesma metodologia analítica desenvolvida para a substância ativa. Além disso, este trabalho comprovou que a cor da cápsula não influenciou no pico detectado por CLAE. Sendo assim, nas análises cromatográficas de medicamentos encapsulados deve ser observado a presença de pico referente a detecção da cápsula, a fim de monitorar a interferência deste no pico da substância ativa.

Agradecimentos: Antônio Joaquim Werneck de Castro, Diretor Presidente do Instituto Vital Brazil; Luís Eduardo Ribeiro da Cunha, Diretor Científico; Celina Rocha Filgueiras, Gerente do Controle de Qualidade; Isabella Piazza, Chefe do Departamento de Controle Químico; e Antônia Maria Cavalcanti de Oliveira, Assessora Especial do Centro de Estudo e Aperfeiçoamento.

CARACTERIZAÇÃO DO PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS POR GC/MS DO CAMARÃO ROSA FARFANTEPENAEUS PAULENSIS

Roberto S. da Cruz, Marco A. Z. dos Santos, Caroline T. Rockembach,
Francisco A. B. Del Pino, Rogério A. Freitag

Universidade Federal de Pelotas (UFPel)
Centro de Ciências Químicas Farmacêuticas e de Alimentos
e-mail: marcsantoss@hotmail.com

O camarão é um dos mais importantes produtos da pesca, comercializados internacionalmente, que gera benefícios econômicos substanciais, especialmente para muitos países em desenvolvimento, dentre eles o Brasil. Estudos mostram que o camarão tem uma alta concentração de proteínas de ótimo valor biológico, um baixo teor de lipídios e uma composição de ácidos graxos ricos em poliinsaturados. As espécies *Farfantepenaeus brasiliensis* e *Farfantepenaeus paulensis* são espécies de camarão-rosa encontradas no litoral brasileiro, sendo a *F. paulensis* a única espécie capturada pelos pescadores da colônia Z3, região do estuário da Lagoa dos Patos, Rio Grande do Sul, Brasil. O objetivo deste trabalho foi avaliar por GC/MS os ácidos graxos no camarão rosa da espécie *Farfantepenaeus paulensis* oriundos de quatro pontos de pesca na comunidade Z3, Lagoa dos Patos, Pelotas, Rio Grande do Sul. Os valores médios encontrados entre os quatro pontos foram 33,6% (ácidos graxos saturados), 13,0% (ácidos graxos monoinsaturados) e 48,8% (ácidos graxos poliinsaturados). Os AG poliinsaturados encontrados em maior concentração foram o ácido eicosapentaenoico (C20:5n3-EPA) 19,2%, ácido docohexaenoico (C22:6n3-DHA) 18,0% e eicosatetraenoico (C20:4n6-ARA) 8,5%. Os ácidos graxos poli-insaturados (AGPI), eicosapentaenoico (EPA) e docosahexaenoico (DHA), atuam no desenvolvimento e funcionamento do cérebro e da retina, considerados importantes na fase gestacional e nos primeiros anos de vida. Analisando os resultados do presente estudo da composição do camarão rosa espécie *Farfantepenaeus paulensis* proveniente da Lagoa dos Patos, Pelotas, Rio Grande do Sul, observa-se que este pode ser uma fonte importante de alimento nutracêutico de acordo com os valores encontrados de ácidos graxos monoinsaturados e poliinsaturados.

Agradecimentos: UFPel, PPGBBio, Capes.



SÍLICA ALUMINIZADA COMO SUPORTE PARA APLICAÇÃO EM CLAE

Renata C. Nome e Carol H. Collins*

*Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas,
13083-970 Campinas, SP, Brasil
chc@iqm.unicamp.br; kecchc@gmail.com*

Uma nova fase estacionária foi preparada por imobilização térmica de poli(metil-tetradecil-siloxano) [PMTDS] sobre sílica aluminizada preparada pela reação de isopropóxido de alumínio com sílica cromatográfica. Parte deste material foi, então, capeado empregando uma mistura de trimetilclorosiloxano e hexametildissilazano. Os suportes e fases estacionárias foram caracterizados por técnicas físico-químicas e cromatográficas. Embora as novas fases estacionárias tenham dado valores baixos de eficiência da coluna, as colunas resultantes exibiram excelentes separações da maioria dos compostos polares e apolares. A fase não capeada exibiu retenção significativa (e picos assimétricos) para vários compostos básicos, indicando a influência da alumina na acidez de silanóis residuais. Por outro lado, a fase capeada pode ser usada com ambos compostos ácidos e básicos, exibindo boa resolução sem assimetria significativa. A presença da camada de alumina contribuiu para aumento significativo da estabilidade das fases resultantes, confirmado através do uso extenso de fases móveis com condições de pH drásticas. ($\text{pH} < 2$ e $\text{pH} > 10$), quando comparado com fases preparadas sem a camada de alumina. As novas fases estacionárias foram testadas na separação de ampla faixa de compostos farmacêuticos e agrotóxicos e os resultados indicaram que as novas fases podem ter uso potencial em tais separações.

Agradecimentos: FAPESP, CAPES, CNPq.

OTIMIZAÇÃO E VALIDAÇÃO DA EXTRAÇÃO DE ESQUALENO CONTIDO NA CYANOBACTERIA PHORMIDIUM SP.

Tassiane dos Santos Ferrão¹; Mariane B. Fagundes¹;
Eduardo Jacob-Lopes¹; Roger Wagner¹

¹Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos,
Universidade Federal de Santa Maria - UFSM, Av. Roraima nº 1000 - Cidade Universitária
e-mail: rogerwag@gmail.com

Nos últimos anos existem diversos estudos aos quais demonstram que as cianobactérias podem fornecer uma expressiva fonte de produtos com alto valor comercial. Dentre os compostos oriundos do metabolismo microalgal, o esqualeno destaca-se como um metabólito chave precursor dos esteróis para muitos microrganismos e possui efeito antioxidante e ação anticarcinogênica. Neste sentido, o estudo teve como objetivo otimizar e validar um método de extração de esqualeno para a cianobactéria *Phormidium* sp. A obtenção da biomassa foi através de cultivo heterotrófico, na ausência da luz e foi utilizado como fonte de carbono, resíduo agroindustrial. Os lipídeos foram extraídos por três métodos de acordo com a metodologia de Bligh e Dyer (1959). Para o tratamento 1 (T1) a extração dos lipídeos foi realizada com diferentes proporções de clorofórmio e metanol, para o tratamento 2 (T2) o método procedeu da mesma forma, entretanto o tempo de contato do solvente com a amostra foi superior, aproximadamente 12 horas, já para o tratamento 3 (T3) foi realizada uma etapa de hidrólise ácida celular precedendo a extração. Para o isolamento do esqualeno foram realizados dois métodos distintos, sendo o primeiro método descrito por Hartman & Lago (HL), este método baseia-se na catálise básica e catalise ácida, o segundo método realizado está de acordo com Christie (C) que tem como particularidade a catalise com metóxido de sódio. A validação do método para a determinação do esqualeno foi realizada através de uma curva de calibração externa, a faixa linear foi determinada através de diferentes soluções do padrão de esqualeno de referência, os limites de detecção (LMD) e quantificação (LMQ), foram realizados injetando uma sequência de soluções e calculadas considerando que o resultado da concentração produziu um sinal-ruído de 3:1 para LMD e 10:1 para LMQ. A análise do esqualeno foi realizada em um cromatógrafo a gás acoplado a detector de ionização em chama (GC-FID). Foi verificada faixa linear de trabalho de 1-50 mg/L com um coeficiente de determinação (R^2) de 0,991 e os valores encontrados para os limites de detecção e quantificação foram 0,3 mg/L e 1,0 mg/L. Os resultados obtidos para os três métodos de extração foram 18,9 µg/g 26,8 µg/g e 25,9 µg/g para os tratamentos T1, T2 e T3 respectivamente, não houve diferença significativa entre os tratamentos na etapa de extração. Os teores de esqualeno, para os métodos de derivatização, apresentaram diferença significativa, os valores encontrados foram 24,3 µg/g para o método (HL) e (C) 26,8 µg/g, esta redução pode estar associada ao uso de ácido para a catálise da reação. A validação do método indicou boa adequação da determinação do fitoesterol por cromatografia em fase gasosa, o método analítico que obteve melhor resposta de esqualeno para a *Phormidium* sp. foi a derivatização pelo método Christie.

Agradecimentos: agradecemos ao CNPq-PIBIC por financiar este estudo.



AVALIAÇÃO DE DIFERENTES SÍNTESES DE SÍLICA SUPERFICIALMENTE MODIFICADA POR LÍQUIDOS IÔNICOS UTILIZANDO METODOLOGIA SOL-GEL E SEU EMPREGO NO PREPARO DE AMOSTRA

Meire Ribeiro da Silva, Álvaro J. dos Santos Neto, Fernando M. Lanças

*Laboratório de Cromatografia, Instituto de Química de São Carlos,
Universidade de São Paulo, São Carlos, Brasil
meire@iqsc.usp.br*

A presença de resíduos de antimicrobianos em alimentos pode ocasionar no homem reações alérgicas, além de resistência antibiótica. A avaliação da exposição da população a resíduos de antimicrobianos é de vital importância para nortear as ações de controle sanitário visando à proteção do consumidor. Deste modo, métodos eficientes de extração e detecção destes compostos e seus metabólitos são importantes para avaliar a contaminação de alimentos ocasionada pelos fármacos. A etapa de preparo de amostra, extração e pré-concentração dos analitos, além da eliminação dos interferentes são necessárias para o desenvolvimento de métodos cromatográficos com alta sensibilidade e seletividade analítica. Por isso, é vantajoso que se utilize sorbentes de alta seletividade aliados a métodos simples, rápidos, que apresentem baixo consumo de reagente e alta sensibilidade. Neste contexto destaca-se o emprego de líquidos iônicos (ILs) na imobilização de superfícies de materiais, tais como sílica com ILs ou na polimerização de materiais com ILs, pois tem apresentado sucesso como materiais absorventes. Neste trabalho avaliou-se a metodologia sol gel para a síntese de sorbente de sílica baseado em IL via catálise ácida e via catálise básica e seu emprego em SPE *off-line* para extração de sulfonamidas (SAs). A sílica foi ativada utilizando ácido clorídrico (HCl) e refluxo por 8 h. Na síntese utilizou-se o método por batelada, em que adicionou-se sílica ativada, $[C_8MIM][PF_6]$, TEOS em metanol agitou-se por 8 h e em seguida adicionou-se HCl e agitou-se até a formação do polímero. O mesmo foi realizado, porém utilizando catálise básica (NH_4OH). O sorbente sintetizado foi caracterizado por espectroscopia vibracional na região do infravermelho. Para confirmar a presença dos modificadores na superfície da sílica, os espectros da sílica ativada e de sílica funcionalizada por IL. A confirmação da funcionalização é a presença da banda pouco intensa próximo de 1575 cm^{-1} , característica do anel imidazólio. Estes resultados sugerem que o IL foi ancorado na superfície da sílica ativada. A eficiência dos sorbentes sintetizados via catálise ácida e via catálise básica na extração das SAs variando a cadeia alquílica do IL foram avaliados utilizando SPE *off-line* e LC-UV/vis. Os resultados mostraram que a eficiência para a extração das SAs foi maior utilizando o sorbente sol-gel via catálise básica. Isto mostra que os analitos foram retidos no sorbente principalmente via troca aniônica e interações eletrostáticas. À medida que a cadeia alquílica ligada ao grupo imidazólio e suportado na superfície da sílica foi aumentada ($C_4 - C_8$) a quantidade de SAs extraídas foi menor, isto possivelmente se deve à diminuição da interação eletrostática causada pela redução de polaridade e também à presença do contra íon hexafluorofostato, aumentando o caráter hidrofóbico do material.

Agradecimentos: Capes, CNPq, FAPESP Proc. 2012/22055-9.

DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIA PARA DETERMINAÇÃO DE ALCALOIDES POR MLC E DETECÇÃO FLUORIMÉTRICA

Mateus, N. S.¹, Lamounier, A. P.¹, da Cunha, A.L.M.C.², Soriano, S.¹, Luna, A.S.³, Aucélio, R.Q.²

¹Instituto Federal do Rio de Janeiro(IFRJ)

²Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro(PUC-Rio)

³Universidade Estadual do Rio de Janeiro(UERJ)

ana.lamounier@ifrj.edu.br

A cromatografia líquida micelar (MLC) é uma abordagem alternativa da cromatografia de fase reversa onde a fase móvel (FM) consiste em uma solução aquosa de surfactante acima da concentração micelar crítica. A ingestão dos alcaloides b-carbolinas em concentrações elevadas, a partir de alimentos e chás, pode causar neuropsicoatividade, alucinação e toxicidade. Nesse trabalho utilizou-se a técnica de MLC com detecção fluorimétrica na determinação simultânea de seis b-carbolinas: harmol (HOL), harmalol (HLOL), harmane (HAE), norharmane (NOR), harmine (HIE) e harmaline (HLINE). O surfactante aniônico dodecilsulfato de sódio (SDS) foi escolhido para promover o meio micelar. Um estudo prévio foi realizado para determinação da constante ácida (pKa) dos analitos, em meios aquoso e micelar, por espectrofotometria. Observou-se um aumento de cerca de uma unidade do pKa dos alcaloides em meio micelar (8 a 12,5) comparado com o aquoso (7 a 11,3). Esse comportamento é resultante da estabilização da espécie catiônica dos alcaloides pela carga negativa da superfície da micela. O cromatógrafo líquido usado foi Agilent 1200 Infinity com detector de fotoluminescência multicanal e coluna C18 (4,6 x 150 mm e 5 µm) mantida a 20°C. O fluxo da FM foi de 0,6 mL/min com eluição isocrática. Os comprimentos de onda de excitação e emissão (nm) para detecção foram: HOL 356/410, HLOL 356/500, HAE 370/447, NOR 370/435, HIE 370/416 e HLINE 370/495. Os parâmetros cromatográficos: concentração do SDS, natureza e porcentagem do solvente orgânico e pH do meio foram otimizados. Os testes iniciais consistiram na variação da concentração de SDS em 70, 150 e 200 mmol/L em fase móvel tamponada com acetato pH 3, 0,5% trietilamina (TEA) (v/v)/5% (v/v) acetonitrila (ACN). A melhor eficiência de separação foi em FM contendo 150 mmol/L de SDS. O pH da FM foi alterado de 3 para 5 e observou-se uma melhora significativa de separação entre HAE/HIE/NOR. A natureza (metanol, propan-2-ol, ACN) e a porcentagem (3 a 20%) de solvente orgânico não influenciaram significativamente na separação. Foi realizado um planejamento experimental CCD de 2 níveis, variando a concentração do SDS de 80 a 220 mmol/L e o pH de 4,5 a 8. O aumento da concentração de SDS diminuiu o tempo total de corrida, independente do valor do pH, caracterizando o comportamento binding dos alcaloides em meio de SDS. A eficiência de separação teve uma maior relação com a variação do pH. Quanto mais básico o pH da FM, melhor foi a eficiência de separação dos analitos, principalmente entre NOR/HIE/HLINE. A FM otimizada consistiu em tampão fosfato pH 8 contendo 220 mmol/L de SDS e 0,5% TEA (v/v)/ 3% ACN (v/v). A separação das substâncias foi alcançada, na linha de base, nas condições experimentais otimizadas com tempo total de corrida de 30 min e consumo de 0,54 mL de ACN por corrida - o menor gasto de solvente orgânico segue os preceitos estabelecidos pela Química Verde.

Os autores agradecem o CNPq, FAPERJ e o IFRJ pelas bolsas e fomentos.



DETERMINAÇÃO DE ALQUILBENZENO LINEAR SULFONATO EM ESTAÇÃO DE TRATAMENTO DE ESGOTO POR CLAE

Luiz G. Silva, Danúbia M. S. Freitas, Ronaldo M. Fonseca,
Savia Gavazza, Lourdinha Florencio e Mario T. Kato

*Laboratório de Saneamento Ambiental - Departamento de Engenharia Civil
Centro de Tecnologias e Geociências - Universidade Federal de Pernambuco
danubia-freitas@live.com*

O alquilbenzeno linear sulfonato (LAS) é um tensoativo aniônico sintético e o princípio ativo da maioria dos detergentes domésticos e industriais. Comercialmente é uma mistura de homólogos e isômeros de posição, variando de 10 a 13 átomos de carbono na cadeia linear. Devido à larga utilização doméstica e industrial torna-se um componente presente nos efluentes, podendo contribuir para a poluição de corpos hídricos quando não devidamente removido. Alguns impactos ambientais, como formação de espumas impedindo a incidência de radiação solar e oxigenação e consequente comprometimento da vida aquática, vem sendo atribuídos mais aos tensoativos em si, do que o inadequado ou falta de tratamento dos efluentes. O LAS, o tensoativo aniônico de maior produção e consumo mundial, considerado como padrão de degradabilidade, pode ser removido em mais de 90% em ambiente aeróbio. Por outro lado, atualmente muitas estações de tratamento utilizam reatores anaeróbios; neste caso, os estudos apontam baixa ou até nenhuma degradação, dependendo das condições operacionais aplicadas. Nesse sentido, este trabalho teve como objetivo quantificar o LAS em um sistema de tratamento de esgotos domésticos em escala real, composto de um reator anaeróbio de manta de lodo e fluxo ascendente (UASB) seguido de uma lagoa de polimento para pós-tratamento e que apresenta certo nível de aeração natural. Uma etapa fundamental foi primeiramente a quantificação do LAS, para a qual foi empregada a cromatografia líquida de alta eficiência em fase reversa, coluna analítica C18 e detecção por fluorescência. Foi realizado um pré-tratamento nas amostras para remoção de interferentes e concentração do LAS pela extração em fase sólida com coluna C18. O método foi linear no intervalo de 5 a 100 mg/L para a concentração total dos 4 homólogos e seus isômeros, apresentando um coeficiente de correlação maior que 0,999. O limite de detecção para cada homólogo foi em torno de 0,02 mg/L e o limite de quantificação foi de 0,1 mg/L. A seletividade foi avaliada e comprovada pela comparação do espectro obtido do LAS na solução padrão com o do LAS das amostras. A recuperação do LAS ficou entre 101 e 103%, e a precisão entre 1 e 2% para os 4 homólogos. A concentração média de LAS no afluente e efluente do reator UASB foi de $5,6 \pm 0,4$ e $3,2 \pm 0,3$ mg/L, respectivamente. Esses resultados mostram uma redução de $43 \pm 9\%$ ($n=13$). No entanto, esta diminuição foi atribuída mais à adsorção do LAS na biomassa anaeróbia, mecanismo bem difundido neste sistema. No efluente da lagoa, a concentração média de LAS foi de $1,5 \pm 0,2$ mg/L, uma diminuição de $53 \pm 12\%$ ($n=13$) em relação ao do UASB. Esta remoção adicional foi atribuída à biodegradação, já que o oxigênio dissolvido variou de 2 a 8 mg/L na lagoa. Constatou-se também, através dos cromatogramas, que alguns dos isômeros presentes no efluente do UASB, não foram detectados no efluente da lagoa.

Agradecimentos: CEPISA Química, Espanha, DETEN Química, Bahia, CNPq e FACEPE.

HIGHLY SENSITIVE AND SELECTIVE ANALYSES BY SFC WITH FL DETECTION FOR TRACE AMOUNTS OF COMPOUNDS

David J. Tognarelli

JASCO INC - 28600 Mary's Court, Easton, MD 21601

dtognarelli@jascoinc.com

Fluorescence (FL) detection is a very powerful method for highly sensitive and selective detection for fluorescent compounds. However, lower pressure resistance of the flow cell for the FL detector has been a major hurdle to apply the method to supercritical fluid chromatography (SFC). We developed the fluorescence detector flow cell that can stand the pressure required for supercritical fluid chromatography (SFC/FL). We will demonstrate the sensitivity of fluorescence detection and the applications.

Advantages of Fluorescence Detection

- Selective detection only for fluorescent materials
- Selection of Excitation and Emission wavelength enables increased the selectivity (detecting only targets of interest)
- High-sensitive detection
- Splitter is not required (as in SFC/MS, ELSD, CAD)
- Applicable to derivatization methods

Yoshiteru Horikawa, Atsushi Tsukamoto, Toshihiko Miyaji, Masao Bounoshita
JASCO Corporation, Tokyo, Japan



USO DAS TÉCNICAS DE CLAE-UV E CLAE-DAC PARA DETERMINAÇÃO DA PUREZA DO PADRÃO DE 1-AMINOINDANTOÍNA

F. G. M. Violante, B. C. Garrido, V.V. de Lima, F. R. Aquino Neto

UFRJ-IQ-LADETEC. Av. Athos da Silveira Ramos, 149, Rio de Janeiro, RJ
INMETRO-DIMCI-DQUIM. Av. N. S. das Graças, 50, Xerém, Duque de Caxias, RJ
fmviolante@inmetro.gov.br

A determinação da pureza de padrões de referência utilizados no preparo de soluções de calibração em medições químicas é um procedimento fundamental para que os resultados obtidos para essas medições sejam rastreáveis ao SI. A pureza desses padrões é normalmente determinada através da quantificação das suas impurezas. Nesse sentido, a técnica de cromatografia líquida com detecção por ultravioleta (CLAE-UV) é comumente empregada para os compostos que não são estáveis termicamente ou não são volatilizáveis e, por isso, não podem ser analisados por cromatografia gasosa com detecção por ionização de chama (CG-DIC). Técnicas baseadas em aerosol tem sido empregadas recentemente em substituição ao UV/DAD, por serem considerados como técnicas de detecção “universal”. Dentre estes sistemas de detecção, o CAD (Detector por Aerosol Carregado) é relativamente recente e tem sido apresentado como o mais apropriado para determinação de pureza por balanço de massas, por produzir respostas proporcionais para cada componente da amostra. Este trabalho tem como objetivo propor o uso complementar das técnicas CLAE-UV e CLAE-DAC para determinação da pureza do padrão de AHD (1-aminoidantoína). O ensaio foi realizado com o padrão de AHD diluído em acetonitrila e água na proporção 50:50, nas concentrações de aproximadamente 12 mg/mL, para a análise por CLAE-UV, e 35 mg/mL para a análise por CLAE-DAC. As análises foram realizadas em cromatógrafos líquidos Thermo, Dionex Ultimate 3000, com detectores UV (254 nm) e Corona Ultra RS. Foi utilizada uma coluna de troca catiônica IonPac™ CS16, 3 x 250mm, Dionex, e a fase móvel empregada foi composta por acetonitrila e ácido trifluoracético 0,1 %, com modo de eluição gradiente e fluxo de 0,3 mL/min. Os volumes de injeção foram de 15 uL e 60 uL, para os sistemas CLAE-UV e CLAE-DAC, respectivamente. Uma abordagem para utilização dos picos detectados no CLAE-UV e não detectados no CLAE-DAC, como fontes de incerteza (desvio -”bias”), é apresentada neste trabalho. A utilização do detector DAC fornece valores rastreáveis para quantificação de impurezas não voláteis, contudo, deve-se ter cautela devido à baixa sensibilidade deste detector, especialmente para compostos voláteis e alguns semivoláteis. De forma a contornar essa desvantagem do DAC, outras técnicas podem ser usadas com o intuito de levar em conta as impurezas não detectadas, conforme foi apresentada nesse trabalho a utilização do CLAE-UV. Os valores encontrados para a pureza, com suas respectivas incertezas, foram comparados com os resultados obtidos por Ressonância Magnética Nuclear Quantitativa (RMNq), e se mostraram compatíveis. Dessa forma, o uso complementar dessas duas técnicas como parte do balanço de massas pode ser uma alternativa para os casos em que um método potencialmente primário, como o RMNq, não está disponível.

Agradecimentos: FAPERJ - Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro.

AVALIAÇÃO CROMATOGRÁFICA DE UMA FASE DE BAIXA HIDROFOBICIDADE IMOBILIZADA TERMICAMENTE PARA CLAE-FR

Maria Cecília B. César¹, Carla G. A. da Silva², Anizio M. Faria¹

¹Química- FACIP, Universidade Federal de Uberlândia, Ituiutaba, MG

²Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP

maria_cecilia.15@hotmail.com

A cromatografia líquida de fase reversa (CLAE-FR) possui como uma de suas principais características a versatilidade e flexibilidade do ajuste da seletividade da fase estacionária a um dado problema analítico, resultando em separações rápidas e eficientes. O preparo de fases estacionárias a partir da imobilização de polímeros sobre suportes inorgânicos tem contribuído para um ajuste fino da seletividade a um problema analítico específico. Este trabalho teve por objetivo o preparo de uma fase estacionária de baixa hidrofobicidade para CLAE-FR, que possa ser aplicada para separação de substâncias altamente hidrofóbicas, empregando fases móveis mais aquosas e, portanto, gerando menor quantidade de resíduos orgânicos. Para isso, foi preparada uma fase a partir da imobilização térmica do poli(dimetil-co-alquilmetilsiloxano), PDAS, sobre partículas de sílica e caracterizá-la cromatograficamente quanto às propriedades de retenção cromatográfica. O PDAS é um polímero que possui intercalados em sua estrutura grupos octadecila e grupos metila, para diminuir a retentividade de substâncias apolares no leito cromatográfico. A fase Si(PDAS) foi preparada pela imobilização do polímero a 100 °C por 12 h e aplicada a separação de uma série de misturas testes de protocolos padrão bem estabelecidos na literatura. A fase Si(PDAS) apresentou hidrofobicidade, medida pelo fator de retenção do amilbenzeno ($k = 0,95$), significativamente inferior ao de fases C18 quimicamente ligadas comerciais ($k > 4,00$). Apesar da menor hidrofobicidade da camada polimérica, a fase Si(PDAS) apresentou seletividade metilênica ($a_{CH_2} = 1,46$), que é a capacidade de separar substâncias que se diferem por um grupo CH₂, similar à de fases C18 comerciais, entre 1,30 e 1,50. Como é comum para fases poliméricas, a Si(PDAS) apresentou adequada seletividade estérica ($a_{T/O} = 1,45$, medida pelo razão entre os fatores de retenção do trifenileno e o-terfenilo), mostrando capacidade de separar substâncias que se diferem apenas quanto à disposição espacial da estrutura química. Além dessas características a fase apresentou um recobrimento polimérico eficiente da superfície do suporte, superior ao alcançado nas fases quimicamente ligadas. Esta característica foi observada devido à baixa capacidade de troca iônica total em pH 7,60 (condição em que todos os silanóis estão negativamente carregados e compostos básicos positivamente carregados), baixa capacidade de formação de ligação de hidrogênio e baixa acidez da superfície da fase estacionária. Dessa forma, a fase Si(PDAS) quando aplicada na separação de compostos altamente hidrofóbicos, como hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, apresentou rápida separação, menos de 15 minutos, empregando fases móveis com alto teor de componente aquoso.

Agradecimentos: FAPEMIG (PEP-00518-14), CNPq e LabCrom/IQ-Unicamp.



QUIMIOTAXONOMIA DA COMUNIDADE FITOPLANCTÔNICA DA BACIA DO ESPÍRITO SANTO (INVERNO 2013)

S.V. Rodrigues¹; V.F. Brant¹; J.A.A. França Jr.¹; H. G. Severino¹; E. Marcon²; V.P.R. Ferreira²

¹Inst. Química, Univ. Federal Fluminense, Out. S. João Batista S/N, Niterói, RJ

²PETROBRAS, CENPES, Av. Horácio Macedo, 950; Cidade Univ., RJ/RJ

silvana@vm.uff.br

O conhecimento da composição e da biomassa do fitoplâncton é de grande importância na compreensão da estrutura e dinâmica do ecossistema pelágico. Por constituírem a base da cadeia trófica nos oceanos, estes organismos são essenciais a processos biogeoquímicos nos sistemas aquáticos. A quantificação da biomassa fitoplanctônica pela quantidade de clorofila a é um parâmetro de avaliação de processos de eutrofização enquanto o discernimento das comunidades reflete o equilíbrio ou desequilíbrio do ecossistema. Este trabalho está inserido no Projeto de Caracterização Ambiental da Bacia do Espírito Santo (AMBES), coordenado pelo CENPES-PETROBRAS, tendo por objetivo identificar e estimar a composição dos grupos de fitoplâncton, na Bacia do Espírito Santo, através da separação de pigmentos fitoplanctônicos por HPLC. O presente trabalho se refere à campanha realizada no inverno de 2013, entre os dias 26 de julho e 7 de setembro, a bordo do Navio de pesquisa Seward Johnson. As amostras foram coletadas em duplicata em duas profundidades, ao longo de 5 Transectos no sentido Norte-Sul, cada um com 8 estações, localizadas entre as isóbatas de 25 e 3000 m. Cada amostra correspondeu ao fitoplâncton filtrado (GF/F, Whatman) de 6 L de água do mar. Os filtros foram armazenados em nitrogênio líquido até o momento da extração assistida por ultrassom/injeção no cromatógrafo (Accella, Thermo Sci.). Utilizando padrões (DHI, Dänmark), foram quantificados 20 pigmentos: monovinil-clorofila c3, clorofila c3, clorofila c2, peridina, 19'butanoil-oxi-fucoxantina, fucoxantina, neoxantina, prasinoxantina, violaxantina, 19'hexa-noil-oxi-fucoxantina, diadinoxantina, aloxantina, diatoxantina, zeaxantina, mixoxantofila, lu-teína, divinil-clorofila b, clorofila b, divinil-clorofila a e clorofila a. A diferença percentual entre os valores obtidos nas duas réplicas foi avaliada e um teste de qualidade global da análise, que correlaciona o somatório de carotenóides com a clorofila total, foi aplicado para todas amostras. Com base nas concentrações obtidas para os pigmentos e nas razões entre alguns pigmentos marcadores, foi detectada a presença de diatomáceas, dinoflagelados, prasinofíceas/clorofíceas, criptofíceas, haptofíceas, pelagofíceas e cianobactérias dos gêneros *Synechococcus* e *Prochlorococcus*. A abundância dos grupos taxonômicos foi avaliada em termos de concentração de clorofila a, com o auxílio de perfis pigmentares dos grupos, tirados da literatura, e do processamento pelo software CHEMTAX. Diatomáceas e dinoflagelados foram mais abundantes nas estações costeiras. As cianobactérias dos gêneros *Prochlorococcus* apresentaram notória dominância nas regiões oceânicas, oligotróficas. Estes resultados irão contribuir para a compreensão do ecossistema, por meio de sua integração com dados de nutrientes, disponibilidade de luz e massas de água, obtidos no mesmo estudo.

Agradecimentos: PIBIC/UFF/CNPq.

INFLUÊNCIA DO CONTEÚDO ORGÂNICO DA FASE MÓVEL NA RETENÇÃO DE COMPOSTOS EM FASE FLUORADA

Claudio de Castro Ferreira, Isabel Cristina Sales Fontes Jardim

*Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas,
Caixa Postal 6154, CEP 13084-971, Campinas - SP, Brasil
icsfj@iqm.unicamp.br*

As fases estacionárias fluoradas baseadas em sílica têm mostrado uma retenção diferenciada para compostos polares e básicos. Essas fases exibem um comportamento de retenção tanto para o modo reservo quando para o modo normal, dependendo da composição e do pH da fase móvel, quando compostos polares e básicos são analisados. Em baixo conteúdo de solvente orgânico na fase móvel (FM), o mecanismo de retenção é similar ao modo reverso, no entanto, em alta concentração de solvente orgânico na fase móvel há um aumento na retenção dos compostos polares e básicos, como ocorre em modo normal. Essa combinação de retenção no modo reverso e normal fornece um gráfico de retenção versus conteúdo orgânico na FM em forma de “U”, denominado “U-shape”.^[1] O objetivo desse trabalho foi verificar a presença do mecanismo “U-shape” na fase estacionária fluorada preparada no Laboratório de Pesquisa em Cromatografia Líquida, LabCrom, do Instituto de Química da UNICAMP. A fase estacionária foi preparada de acordo com o trabalho de Maldaner e Jardim^[2] e submetida à reação de capeamento. Para a verificação do mecanismo “U-shape” nesta fase, dois tipos de fases móveis foram preparadas utilizando tampão fosfato a pH 2,7 e pH 7,6. A concentração de acetronitrila na FM variou de 50% a 90%, em ambas os tipos de FM. Foram analisados os compostos básicos: amitriptilina, nortriptilina e fluoxetina e também os compostos ácidos: levofloxacina (polar), bromazepam e diazepam. Com os resultados obtidos, foram construídos gráficos plotando a retenção dos compostos vs a porcentagem de acetronitrila na FM. Os compostos básicos apresentaram o mecanismo de retenção U-shape em meio básico. A pH 7,6, os silanóis residuais estão completamente dissociados e os compostos básicos apresentam-se protonados, o que favorece a interação por troca iônica entre ambos, aumentando as suas retenções. Já os compostos ácidos não apresentaram esse comportamento, isto é, o aumento do conteúdo de solvente orgânico na FM diminuiu a retenção desses compostos, pois estes apresentam mecanismo de retenção comum em modo reverso. A levofloxacina, composto altamente polar, apresentou aumento na retenção em alta concentração de solvente orgânico, entretanto, não foi significativo.

Referências:

[1] Bell, D.S; Jones, A.D; J. Chromatogr. A, 1073 (2005) 99–109.

[2] Maldaner, L.; Jardim, I.C.S.F. J. Sep. Sci. 2010, 33, 174–181.

Agradecimentos: FAPESP, CAPES, CNPq, INCTAA, Unicamp.



DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS ANALÍTICOS PARA QUANTIFICAÇÃO DE METABÓLITOS EM LEVEDURAS POR UPLC-MS/MS

Christiane G. Campos, José Antônio de A. Ribeiro, Patrícia P. K. G. Costa,
Clenilson M. Rodrigues, Patrícia V. Abdelnur

*Embrapa Agroenergia, Parque Estação Biológica (pqEB),
PqEB s/nº, CEP 70770-901, Brasília, DF
patricia.abdelnur@embrapa.br*

A demanda por fontes sustentáveis e renováveis de energia, bem como a substituição de combustíveis fósseis têm estimulado diversos estudos para a produção de biocombustíveis a partir de biomassa lignocelulósica, como o etanol de segunda geração (2G). No entanto, um dos desafios na produção deste biocombustível consiste no desenvolvimento de tecnologias eficientes para converter xilose em etanol no processo de fermentação de açúcares. Uma das alternativas promissoras é a utilização da metabolômica para identificar alvos moleculares, os quais podem ser utilizados no melhoramento de microrganismos utilizados no processo fermentativo. Vários estudos utilizam o LC-MS (cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas) como uma ferramenta de trabalho ideal em metabolômica, para identificação e quantificação de metabólitos presentes em um sistema, por ser de fácil utilização, sensível, robusta tanto para a matriz, como na operação de rotina. Este trabalho objetiva desenvolver um método analítico baseado em cromatografia líquida de ultra eficiência acoplada a espectrometria de massas *tandem* (UPLC-MS/MS) para quantificar, de forma otimizada, robusta, rápida, seletiva e sensível, os metabólitos presentes na via metabólica de leveduras para a conversão de xilose a etanol. Inicialmente, a análise direta por espectrometria de massas (DIMS) foi utilizada para identificar os padrões de metabólitos presentes na via, utilizando um espectrômetro de massas com fonte de ionização electrospray (ESI) e analisador tipo triplo quadrupolo (QqQ) (TQD, Waters). As análises foram realizadas em modo negativo (ESI(-)-MS/MS) e em modo positivo (ESI(+)-MS/MS), variando-se alguns parâmetros analíticos para garantir a máxima ionização da amostra e melhor fragmentação, como voltagem do cone e do capilar, temperaturas e energia de colisão. Estes dados foram posteriormente utilizados para o desenvolvimento de um método mais sensível por MRM (Multiple Reaction Monitoring). A separação dos metabólitos foi realizada utilizando cromatografia de ultra alta eficiência (UPLC) (Acquity, Waters), testando-se diferentes colunas e fases móveis. Devido a natureza química dos compostos presentes na via metabólica de interesse, foi necessário o desenvolvimento de dois métodos de separação: um método de cromatografia por pareamento iônico em fase reversa, utilizando uma coluna do tipo HSS-T3; e outro método de cromatografia de interação hidrofílica (HILIC), utilizando uma coluna do tipo amida. Com base nos resultados obtidos, 17 metabólitos presentes na via metabólica de interesse foram identificados e podem ser quantificados a partir dos dois métodos desenvolvidos por UPLC-MS/MS. A próxima etapa do trabalho consiste na otimização do preparo de amostra e na análise dos metabólitos presentes em leveduras. Estes resultados poderão ser utilizados futuramente no melhoramento genético de leveduras fermentadoras de xilose.

Os autores agradecem a Embrapa Agroenergia e a Universidade de Brasília pelo apoio e suporte financeiro.