

Desenvolvimento de método *online* de extração e separação de fipronil em plasma bovino por cromatografia líquida de alta eficiência com detecção em ultravioleta

Thais Ferreira Paes² (TM) *, Geraldo Augusto Pereira¹ (IC) *, Fernanda C. S. da Silva¹ (IC), Rodrigo Machado Oliveira¹ (IC), Viviane de Souza Magalhães² (PG), Fabio Scott² (PQ), Yara Peluso Cid¹ (PQ)

¹Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, DEQUIM-ICE ²Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, DPA-IV.

* tais_paes@hotmail.com

Palavras Chave: *preparo de amostra, cromatografia multidimensional*

Introdução

O fipronil (FIP) é um inseticida pertencente à classe dos fenilpirazóis indicado para o uso agrícola, saneante, veterinário e domissanitário¹. Devido seu uso extensivo como pesticida na agricultura, um grande número de trabalhos descreve sua determinação em amostras de água, solo, alimentos e plasma^{2,3,4}. Em análise de matrizes complexas a etapa de extração e eliminação de impurezas é fundamental para eliminar compostos que possam interferir no método analítico. Uma alternativa aos métodos tradicionais de preparo de amostra seria a utilização de cromatografia líquida multidimensional onde o sistema é integrado, e a amostra é injetada diretamente no cromatógrafo, para extração e separação do analito desejado. Com uso de duas bombas e uma válvula seletora, o sentido do fluxo pode ser controlado. Esse sistema trabalha com duas colunas, uma coluna extratora e uma coluna analítica.⁵ O objetivo deste trabalho é desenvolver e validar um método bioanalítico para quantificação de fipronil em plasma bovino por CLAE-UV utilizando uma coluna de meio de acesso restrito (RAM), como um método *online* de separação e extração.

Resultados e Discussão

Para o desenvolvimento do método o sistema foi acoplado a duas bombas quaternárias interligadas por uma válvula de seis vias e duas colunas cromatográficas, uma para extração (RAM-LiChrospher[®] ADS C18 - 25µm - 400 x 40 mm) e a outra para separação do FIP e do Etioproil, padrão interno (Nucleosil C18 5-100 , 250x46mm) (Fig.1).

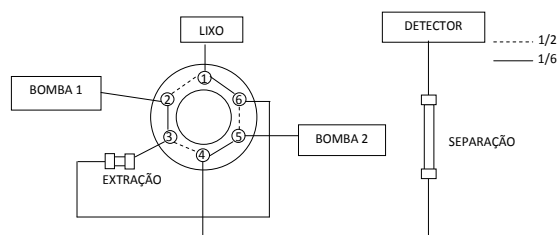


Figura 1. Esquema do método *online* de extração e separação em modo *backflush*.

Para alcançar o limite de quantificação de 5ng/mL foi utilizado um volume de injeção de 300µL, com 15 minutos para exclusão protéica, 3 minutos para transferência do analito e 22 minutos para separação de FIP/PI e condicionamento da RAM, totalizando 40 minutos de análise.

O método se mostrou linear na faixa de 5 a 1000 ng/mL. Os valores de precisão, exatidão e recuperação estão dentro dos limites preconizados pela RDC 27/2012 e não há pico interferente no tempo de retenção do FIP comprovando seletividade do método (Fig 2.)

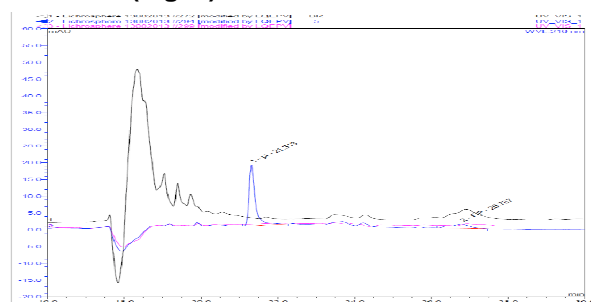


Figura 2. Cromatograma de seletividade: (---)Branco, (---) Padrão e (---) Amostra.

Conclusões

O método com o sistema multidimensional é uma boa alternativa para análise de FIP em plasma bovino. A automatização do sistema com injeção direta da matriz biológica gera resultados confiáveis em menor tempo de análise.

Agradecimentos

À FAPERJ (Auxílio Instalação - 111.052/2013) e à FAPUR por aporte financeiro e à UFRRJ (programa PROIC) por bolsa concedida.

¹ Pesticide Action Network. PAN. Union King. <http://www.pan-uk.org/pestnews/actives/fipronil.htm>. 2009.

² Brennan,A.A.; You, J.; Lydy, M.J. *Talanta*, **2000**, *78*, 408.

³ Jimenez,J.J.; Bernal, J.L.; Nozal, M.J.; Martín, M.T.; Mayo, R., *J. Chromat. A*, **2008**, *1187*, 40.

⁴ Bichon, E.; Richard, C. A.; Bizec, B. J. *of Chromat. A*, **2008**, *1201*, 91.

⁵ Santos Neto, A. J.; Rodrigues, J. C.; Fernandes C.; Titato, G. M.; Alves, C.; Lencas, F. M. *J. Chrom. A*, **2006**, *1105*, 71.