

QuEChERS: possibilidades e tendências no preparo de amostra para determinação multirresíduo de pesticidas em alimentos

Osmar Damian Prestes, Martha Bohrer Adaime, Renato Zanella

*Laboratório de Análises de Resíduos de Pesticidas, Departamento de Química,
Universidade Federal de Santa Maria, Cep 97105-900, Santa Maria, RS, Brasil
e-mail: rzanella@base.ufsm.br*

Resumo

Este artigo apresenta uma visão atualizada do método QuEChERS para extração multirresíduo, que envolve extração inicial em acetonitrila, etapa de partição após a adição de sal e uma etapa de limpeza utilizando extração em fase sólida dispersiva. O método QuEChERS é hoje o método de extração mais utilizado para a determinação de resíduos de pesticidas em amostras de alimentos, proporcionando exatidão e precisão aceitáveis de pesticidas ácidos, neutros e básicos.

Palavras-chave

Preparo de amostra; QuEChERS; análise de alimentos; pesticidas.

QuEChERS: possibilities and trends in sample preparation for multiresidue determination of pesticides in food

Abstract

This paper presents an updated overview of the QuEChERS multiresidue extraction method that involves initial extraction in acetonitrile, an extraction/partition step after the addition of salt, and a clean-up step utilizing dispersive solid phase extraction. QuEChERS method is nowadays the most applied extraction method for the determination of pesticide residues in food samples, providing acceptable accuracy and precision for acidic, neutral and basic pesticides.

Keywords

Sample preparation; QuEChERS; food analysis; pesticides.

1 Introdução

Nos últimos anos, ocorreu um desenvolvimento rápido de novos métodos analíticos, visando à determinação de resíduos de pesticidas em alimentos. Estes avanços tiveram como objetivo a substituição dos métodos tradicionais de análise de resíduos que apresentavam como característica a morosidade de suas diversas eta-

pas, o emprego de grandes volumes de solvente, o alto custo, etc.

Geralmente a complexidade da composição dos alimentos ocasiona dificuldades para a quantificação dos pesticidas, sendo necessária a realização de uma etapa de limpeza (*clean-up*) do extrato, após extração com solvente. Esta etapa é funda-

mental, uma vez que reduz as interferências e o efeito matriz, além de diminuir a necessidade de manutenção técnica do sistema cromatográfico¹.

As limitações na determinação de resíduos de pesticidas foram minimizadas após o desenvolvimento dos métodos multirresíduo. Estes apresentam como vantagens a possibilidade de analisar um grande número de compostos, com

altos percentuais de recuperação (exatidão) dos analitos, remoção dos possíveis interferentes da amostra, boa precisão e robustez, baixo custo, rapidez, facilidade e segurança (utilizam pequenos volumes de solventes de baixa toxicidade). A Tabela 1 apresenta, em ordem cronológica, o desenvolvimento destes métodos, enfatizando as etapas envolvidas e as principais características.

Tabela 1 Ordem cronológica dos principais métodos de análise de resíduos de pesticidas em alimentos.

Década	Método	Extração e limpeza	Características	Ref.
1960	Método de Mills	O método baseia-se em uma extração com acetonitrila sendo utilizado basicamente na determinação de compostos organoclorados em amostras não-gordurosas. Limpeza em coluna contendo florisil®.	A extração é seguida por uma etapa de partição com éter de petróleo. Baixa recuperação para organofosforados.	1-4
	Método de Storherr	Com algumas modificações em relação ao método de Mills. A extração é realizada com acetonitrila, porém o éter de petróleo é substituído por diclorometano. Limpeza com carvão ativado.	Aplicação para organoclorados e organofosforados em frutas e vegetais.	5
1970	Método para organoclorados, organofosforados e nitrogenados	Utiliza acetona na etapa de extração. Seguido de uma partição líquido-líquido utilizando diclorometano ou mistura de diclorometano e éter de petróleo, a fim de remover a água. A etapa de limpeza é realizada com carvão ativado.	Este foi o primeiro método em que uma solução de cloreto de sódio foi adicionada ao extrato para promover o efeito <i>salting out</i> .	6
	Método de Luke	A extração dos pesticidas é realizada com acetona. Adiciona-se cloreto de sódio para saturar a fase aquosa, resultando maiores valores de recuperação dos compostos polares. A etapa de limpeza, quando realizada, é feita com coluna de florisil®.	Este método e suas modificações ainda são utilizados em análises de resíduos de pesticidas.	7-10
1980		Esta época foi marcada pelo desenvolvimento de métodos que não exigiam a utilização de grandes quantidades de solventes clorados substituídos, por mistura 1:1 de cicloexano e acetato de etila. Além disso, os solventes apolares foram substituídos por sais (Na_2SO_4 , MgSO_4 , NaCl , etc.) durante o processo de partição. A SPE começou a ser amplamente utilizada, substituindo muitos métodos baseados na extração líquido-líquido.	A acetona continua sendo o solvente mais utilizado na extração, com a possibilidade de substituição por acetonitrila e acetato de etila. A fim de melhorar a recuperação de compostos polares o sulfato de sódio passa ser amplamente utilizado. Além disso, diversos procedimentos de limpeza foram desenvolvidos.	11-19
1990 - atual		Os avanços da Química Analítica em consonância com o conceito de sustentabilidade levaram ao desenvolvimento de várias técnicas alternativas de extração.	Rapidez na execução das análises, miniaturização, automatização.	20-39

Durante a década de 1990 ocorreu um grande desenvolvimento de métodos alternativos de extração baseados na redução do volume de solvente utilizado na etapa de extração. Entre estes novos métodos pode-se citar a Extração em Fase Sólida (*Solid Phase Extraction*, SPE), a qual também tem sido empregada com frequência na etapa de limpeza do extrato para amostras de alimentos. Outros métodos que foram desenvolvidos neste período também tinham como objetivo a simplificação de etapas como, por exemplo, Dispersão da Matriz em Fase Sólida (*Matrix Solid Phase Dispersion*, MSPD), Microextração em Fase Sólida (*Solid Phase Microextraction*, SPME) e Extração com Membrana Assistida por

Solvente (*Membrane-Assisted Solvent Extraction*, MASE). Em 1999, foi proposta a Extração Sortiva em Barra Magnética (*Stir Bar Sorptive Extraction*, SBSE) que fornece baixos limites de detecção (LD), especialmente para analitos hidrofóbicos. Extração por Fluido Supercrítico (*Supercritical Fluid Extraction*, SFE), Extração Acelerada por Solventes (*Pressurized Liquid Extraction*, PLE) e Extração Assistida por Micro-ondas (*Microwave Assisted Extraction*, MAE) são exemplos de métodos que apresentam, dentre outras características, elevada eficiência, entretanto, geralmente demandam investimento considerável em instrumentação. A Tabela 2 destaca algumas vantagens e desvantagens destas técnicas de preparo de amostra.

Tabela 2 Comparação entre as principais técnicas modernas de extração, utilizadas na análise de resíduos de pesticidas em alimentos.

Técnica	Vantagens	Desvantagens	Ref.
MAE	Extração simultânea de diversas amostras; facilidade de operação; utiliza pequenas quantidades de solventes; tempo curto de extração.	Extração pouco seletiva; necessidade de limpeza do extrato; não pode ser utilizada para compostos termolábeis.	20-22
PLE	Automação do processo de extração; tempo curto de extração; consumo moderado de solventes; simplicidade no preparo da amostra.	Custos elevados para aquisição e manutenção do equipamento; baixa seletividade de extração; necessidade de limpeza do equipamento entre as extrações; não pode ser utilizada na extração de compostos termolábeis.	23-25
MSPD	Utilização de equipamentos simples; consumo moderado de solventes; simplicidade no preparo da amostra.	Não é apropriada para amostras secas ou com alto teor de lipídeos; alto consumo de solventes; em alguns casos há necessidade de limpeza adicional.	26-28
SPME	A utilização de solventes pode ser completamente eliminada; possibilidade de reanalisar uma determinada amostra; fibra pode ser utilizada muitas vezes sem perda de adsorção; pode ser acoplada diretamente ao sistema cromatográfico.	Problemas de precisão; poucas fibras disponíveis comercialmente morosidade na otimização do método; percentual de recuperação relativamente baixo.	29-31
SFE	Consumo reduzido de solventes; possibilidade de extrair compostos termolábeis; não há degradação de compostos durante a extração; curto tempo de extração.	Custos elevados de aquisição e manutenção do equipamento; necessidade de limpeza do equipamento entre as extrações; operação complicada, quando comparada com as outras técnicas de extração.	32-35
MASE	Introdução direta de amostras não tratadas; diminuição do uso de solvente; possibilidade de analisar amostras complexas; eliminação de interferências; elevado grau de pré-concentração do analito; facilidade para automatizar.	Baixa eficiência; sensível a contaminantes sólidos que podem obstruir os poros da membrana, ocasionando um prolongado tempo de análise para o preparo de amostra; tempo prolongado de análise.	36-38

Estes novos métodos possuem como base a instrumentação, sendo a extração muitas vezes automatizada, demandando analistas treinados e etapas de limpeza no intervalo entre extrações, o que implica em um maior tempo de análise. Outra desvantagem geralmente apresentada é o escopo limitado de pesticidas que podem ser extraídos sob determinadas condições. Sendo assim, estes procedimentos, podem ser empregados em algumas aplicações, mas geralmente estão distantes de serem considerados ideais para um método multirresíduo de pesticidas em alimentos.

2 Desenvolvimento do método QuEChERS

Em 2003, Anastassiades et al.⁴⁰ com o objetivo de superar as limitações práticas dos métodos multirresíduo existentes, na época, introduziram um novo procedimento de preparo de amostra para extração de resíduos de pesticidas denominado QuEChERS (*Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, Safe*) sendo que a pronúncia, de acordo com os autores, deve ser *catchers*⁴¹. Esse método, que tem como vantagens ser rápido, fácil, econômico, efetivo, robusto e seguro, explora as possibilidades oferecidas pela instrumentação analítica moderna.

Com o objetivo de atender aos rigorosos Limites Máximos de Resíduos, estabelecidos por legislações internacionais, este método foi idealizado para gerar extratos que pudessem ser analisados por Cromatografia Líquida e/ou Cromatografia Gasosa acopladas à Espectrometria de Massas em Série (GC-MS/MS e LC-MS/MS)⁴⁰. A praticidade e os excelentes resultados fornecidos pelo método QuEChERS em combinação com estas técnicas, ajudaram na popularização deste método e dos seus concei-

tos. De acordo com o *ISI Web of Knowledge*, o artigo no qual este método foi descrito pela primeira vez já possui mais de 210 citações⁴².

2.1 Método QuEChERS original

Durante o desenvolvimento do método QuEChERS, Anastassiades et al.⁴⁰ revisaram as condições comumente utilizadas na análise multirresíduo de pesticidas e propuseram este novo método de preparo de amostra, baseado nas seguintes etapas: extração com acetonitrila, seguida da partição, promovida pela adição de sais (ex. sulfato de magnésio, $MgSO_4$, e cloreto de sódio, NaCl). Um novo método de limpeza denominado Extração em Fase Sólida Dispersiva (*Dispersive Solid Phase Extraction*, D-SPE) foi proposto juntamente com o método QuEChERS. Na Figura 1a estão representadas as principais etapas do método QuEChERS original.

A utilização de acetonitrila como solvente possibilita a extração de uma menor quantidade de co-extrativos lipofílicos provenientes da amostra, como por exemplo, ceras, gorduras e pigmentos⁴³. A acetonitrila proporciona a extração de uma ampla faixa de pesticidas com diferentes polaridades e, quando acidificada, permite recuperações satisfatórias de pesticidas que geralmente apresentam problemas de estabilidade. Outra grande vantagem é que acetonitrila é mais adequada para LC-MS/MS do que acetona e acetato de etila e pode ser utilizada sem problemas na análise por GC-MS/MS. Assim, acetonitrila foi escolhida como solvente de extração para o método QuEChERS^{40,44}.

A maioria dos métodos multirresíduo de preparo de amostra empregam *blenders*, como o Ultraturrax, durante o procedimento de extração. O procedimento de agitação manual ou com auxílio do Vortex possui várias vantagens em relação à agitação mecânica, tais como, possibilidade de realizar a extração a campo; a extração

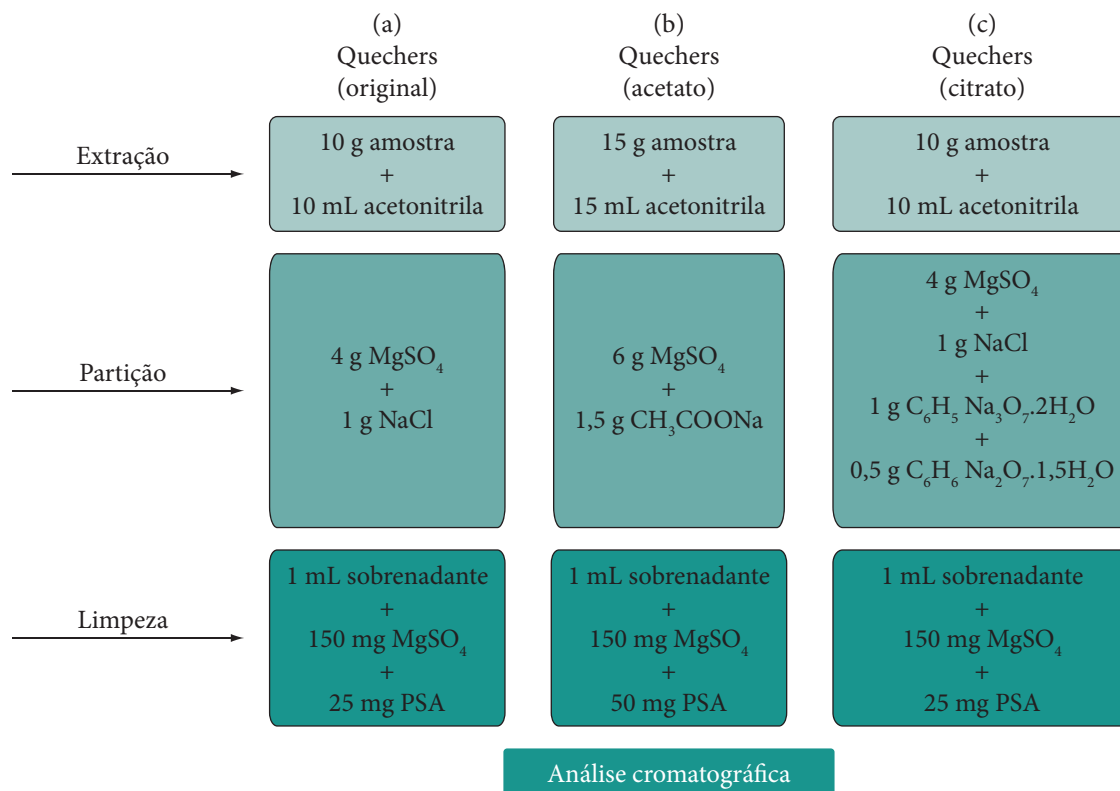


Figura 1 Representação das etapas das principais versões do método QuEChERS a) original; b) acetato; e c) citrato.

ocorre em um único frasco fechado não expondo o analista; rapidez, uma vez que não há necessidade de lavagem do homogeneizador no intervalo entre as extrações. Portanto, no método QuEChERS a agitação pode ser manual ou utilizando Vortex^{40,45}.

A adição de sais para promover o efeito *salting out* é utilizada em vários métodos multirresíduo. Dependendo da natureza do solvente utilizado na etapa de partição obtém-se melhores percentuais de recuperação para analitos polares, uma vez que a adição de sais diminui a solubilidade destes compostos na fase aquosa, bem como a quantidade de água na fase orgânica e vice-versa⁴⁶⁻⁴⁸.

Nos métodos multirresíduo que utilizam acetona, a partição é controlada através de uma combinação de NaCl e solventes apolares, porém

tem como desvantagens a diluição do extrato e o consumo de um maior volume de solvente. Os métodos multirresíduo que utilizam acetonitrila, desenvolvidos até então, não empregam adição de nenhum tipo de solvente apolar no processo de partição^{49,50}. Na extração com acetonitrila, a adição de sais é muito conveniente uma vez que é rápida, fácil, apresenta baixo custo, tem a grande vantagem de não diluir o extrato da amostra e proporciona a separação das fases orgânica e aquosa.

A utilização de sais secantes, como sulfato de sódio (Na₂SO₄), tem a finalidade de melhorar a recuperação de pesticidas polares¹⁸. A escolha do MgSO₄ no desenvolvimento do método QuEChERS foi devido a maior capacidade de remover água quando comparado a outros sais. Além de reduzir o volume de fase aquosa, sua hidratação é uma reação exotérmica, tendo

como resultado o aquecimento entre 40 e 45 °C da amostra durante as etapas de extração/partição, favorecendo a extração, especialmente dos compostos apolares⁴⁰.

A etapa de limpeza é essencial para promover robustez e confiabilidade aos resultados obtidos pelo sistema cromatográfico, uma vez que componentes não-voláteis da matriz podem ficar aderidos no sistema de injeção e também na coluna cromatográfica, alterando a resposta do sistema e aumentando a frequência de manutenções técnicas no equipamento^{51,52}.

Tradicionalmente a etapa de limpeza emprega SPE, a qual utiliza cartuchos ou colunas que contêm entre 250 e 1000 mg de sorvente⁵³. Esta técnica envolve operação manual, uso de diferentes solventes para lavagem do sorvente, etapas de evaporação e secagem. Muitos fatores afetam a precisão quando se trabalha com SPE, entre eles o ajuste do sistema de vácuo e o fluxo dos solventes. Esta técnica quando automatizada requer manutenção frequente, além dos sistemas hoje disponíveis apresentarem um custo considerável⁵³.

Ao contrário dos métodos já existentes para limpeza com SPE que utilizam cartuchos ou colunas, a D-SPE permite que a limpeza e a redução de água residual sejam efetuados de uma forma rápida e simultânea⁴⁰. Esta etapa de remoção de água proporciona um extrato final de menor polaridade, facilitando assim a precipitação de co-extrativos polares. O sorvente PSA (do inglês, *primary secondary amine*) retém as interferências da matriz, sendo que depois da agitação manual e centrifugação o extrato está pronto para ser injetado no sistema cromatográfico⁴⁰. A estrutura bidentada do PSA tem um elevado efeito quelante, devido à presença dos grupos amino primário e secundário. Como resultado, a retenção de ácidos graxos livres e de outros compostos polares presentes na matriz é

muito forte. Uma limpeza eficiente garante uma maior vida útil para insumos e colunas cromatográficas, reduzindo assim a contaminação do sistema cromatográfico e minimizando o efeito matriz⁵⁴⁻⁵⁸.

2.2 Modificações do método QuEChERS

Durante o desenvolvimento da primeira versão do método QuEChERS (Figura 1a), apenas 25 pesticidas comumente analisados por GC-MS/MS foram avaliados⁴⁰. Apesar da versão original ter fornecido excelentes resultados para diferentes tipos de amostras⁵⁹⁻⁶¹, algumas aplicações mostraram que certos compostos apresentavam problemas de estabilidade e/ou recuperação de acordo com o pH da matriz^{59,62,63}. Desta forma, durante o período de otimização do método, percebeu-se que a utilização de tampões (pH 5) promoviam recuperações satisfatórias (>70%) para compostos dependentes do pH (por ex.: pimetrozina, imazalil e tiabendazol), independente da matriz utilizada^{62,63}.

De acordo com Lehotay e Anastassiades⁶⁴, a adição de uma etapa de tamponamento foi a primeira modificação proposta para o método QuEChERS, com o objetivo de melhorar os percentuais de recuperação (70-120%). Lehotay et al.⁶⁵ desenvolveram o método “QuEChERS-acetato” (Figura 1b), no qual o efeito tamponante (pH 4,8) é promovido pela adição de acetato de sódio. Este método foi adotado em 2007 como método oficial da *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC) para a determinação de resíduos de pesticidas em alimentos⁶⁶. Anastassiades et al.⁶³ propuseram o método “QuEChERS-citrato” (Figura 1c), este utiliza uma mistura de citrato de sódio diidratado e hidrogenocitrato sesquihidratado como responsáveis pelo efeito tamponante (pH 5,0-5,5). Em 2008, o *Comité*

Européen de Normalisation (CEN), oficializou o método “QuEChERS citrato” como método de referência na União Européia⁶⁷.

Outra modificação bastante relevante foi a adição de C_{18} ^[68], juntamente com PSA na etapa de limpeza (D-SPE), para promover uma limpeza mais efetiva de algumas matrizes, em especial aquelas que contêm gordura⁶⁹⁻⁷⁴. A combinação do método QuEChERS com limpeza à baixa temperatura, visando a redução dos co-extrativos lipídicos, também foi empregada com sucesso. Porém, a adição de C_{18} na etapa de D-SPE é mais rápida e fácil, e promove uma remoção igualmente eficaz dos lipídios⁷¹.

Além destas modificações, a redução do teor de clorofila nos co-extrativos provenientes de amostras com pigmentação verde, foi outro avanço efetuado na etapa de limpeza^{40,63}, obtido através da adição de uma pequena quantidade de carbono grafitizado^{69,73,74}. Outra modificação realizada na etapa de limpeza foi o uso de uma maior quantidade de PSA na etapa de D-SPE em amostras de cereais como objetivo de remover de forma mais eficiente os ácidos graxos co-extraídos⁷⁰.

3 Versatilidade e praticidade do método QuEChERS

A praticidade de execução do método QuEChERS pode ser observada na Figura 2. Ensaio de proficiência empregando este método comprovaram sua robustez, sendo o método transferido com sucesso entre os laboratórios participantes⁷⁵.

As modificações já realizadas no método QuEChERS indicam um futuro promissor na análise multirresíduo de pesticidas em alimentos e outros produtos agrícolas. Além dos trabalhos citados, o método tem sido empregado de forma

satisfatória quando aliado à Espectrometria de Massas, porém não está limitado somente a este tipo de detector.

Hernández-Borges et al.⁷⁶ utilizaram o método QuEChERS e GC-NPD para a determinação de 11 pesticidas em banana, com valores de limite de quantificação (LQ) na faixa de 0,01 a 0,14 mg.kg⁻¹, percentuais de recuperação entre 67 e 118% e RSD < 16%. O método QuEChERS também foi utilizado na extração de 36 pesticidas em amostras de mel, seguida da determinação por GC-ECD e GC-NPD. Obtiveram-se percentuais de recuperação entre 70 e 120% e RSD < 22%⁷⁷.

Os inseticidas diflubenzurona e triflumurona foram extraídos de amostras de tomate empregando-se o método QuEChERS e determinados por LC acoplada a sistema de fotoderivatização pós-coluna com detector de quimio-luminescência. A recuperação ficou entre 79,7 e 94,2%, com valores de RSD < 10%, valores de LD na faixa de 0,05 a 0,26 µg.kg⁻¹ e valores de LQ entre 10 e 20 µg.kg⁻¹^[78].

4 Limitações do método QuEChERS

Nos últimos anos, o método QuEChERS iniciou uma verdadeira transformação no preparo de amostra para análise de resíduos de pesticidas em alimentos, uma vez que suas características de simplicidade, rapidez, baixo custo, entre outras, foram incorporadas em vários laboratórios de rotina. Porém, ao ser comparado com métodos comumente utilizados para análise de resíduos de pesticidas em alimentos, observa-se que a relação entre a quantidade de amostra: solvente (1 g.mL⁻¹) obtida no método QuEChERS é baixa se comparada com os valores típicos de 2 a 5 g.mL⁻¹ dos métodos que utilizam solventes apolares⁷⁹. Portanto, se a matriz não é uma fonte de ruídos na etapa de análise isto pode

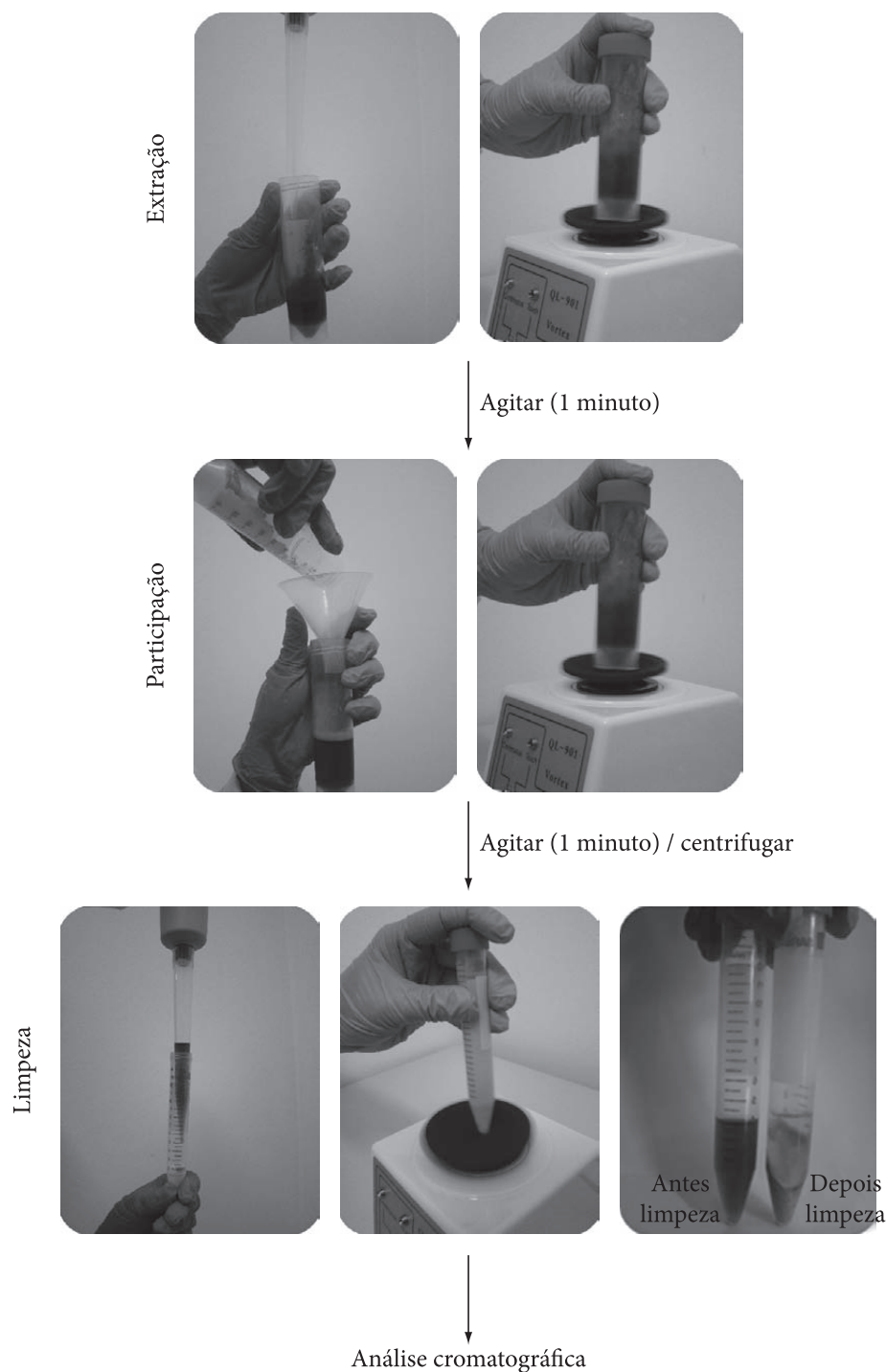


Figura 2 Representação da praticidade de operação do método QuEChERS.

conduzir, no método QuEChERS, a valores de LQ mais elevados, para o mesmo volume de injeção. Entretanto, considerando a alta detectabilidade das técnicas cromatográficas disponíveis

atualmente, principalmente com GC-MS/MS e LC-MS/MS, o método QuEChERS é adequado para o preparo de amostra visando o controle de resíduos de pesticidas em alimentos.

Além disso, a acetonitrila é um excelente solvente para os métodos de determinação que utilizam LC-MS/MS, mas não é ideal para análises empregando GC-MS/MS. Porém, os avanços nos sistemas de injeção permitem a combinação perfeita entre o método QuEChERS e GC-MS/MS. Entre eles podemos citar a injeção de grandes volumes (*Large Volume Injection – LVI*), que permite a injeção de uma maior quantidade de extrato e conseqüentemente de analitos, promovendo um aumento significativo de detectabilidade. Outro avanço bastante significativo nos sistemas de injeção foi a possibilidade da realização de programação de temperatura de vaporização (*Programmed Temperature Vaporized – PTV*) que possibilita a obtenção de uma melhor resposta cromatográfica⁸⁰.

5 Perspectivas na análise de resíduos de pesticidas empregando o método QuEChERS

As perspectivas em relação ao método QuEChERS são bastante otimistas, no que diz respeito a obtenção de resultados satisfatórios na extração de um número cada vez maior de pesticidas em diferentes tipos de amostras complexas. Este método tem sido bem sucedido na extração de pesticidas em alimentos com diferentes características como, por exemplo, frutas, vegetais, cereais e alimentos com alto teor de gordura como ovos, leite, abacate, azeite, entre outros^{68,81,82}.

A versatilidade, uma das principais características do método QuEChERS, possibilitou sua utilização na determinação de outros tipos de resíduos e contaminantes, diferentes de pesticidas. Este método já foi aplicado na determinação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em peixes⁸³ de acrilamida em diferentes tipos de

alimentos⁸⁴, de medicamentos veterinários em amostras de origem animal⁸⁵⁻⁸⁸ e de medicamentos em plasma humano⁸⁹.

A medida que as legislações internacionais tornam-se cada vez mais restritivas em relação aos Limites Máximos de Resíduos haverá a necessidade de analisar um amplo escopo de diferentes tipos de resíduos e contaminantes. A fim de atender esta demanda, os fundamentos do método QuEChERS foram utilizados no desenvolvimento dos primeiros métodos genéricos de extração^{90,91}. Estes métodos possuem como característica a extração de um amplo escopo de diferentes tipos de resíduos e contaminantes, como por exemplo: pesticidas, micotoxinas e medicamentos veterinários.

6 Conclusões

Fica evidente que desde a sua publicação o método QuEChERS foi amplamente utilizado para a determinação multirresíduo de pesticidas em matrizes complexas, principalmente de alimentos. As modificações deste método tiveram como objetivo garantir a eficiência da extração, minimizar a degradação de alguns compostos e aumentar o escopo de pesticidas e matrizes analisadas. As vantagens do método QuEChERS e a quantidade de informações publicadas até o momento permitem afirmar que o método representa o estado da arte na determinação multirresíduo de pesticidas em alimentos.

Referências

- 1 Trufelli H, Palma P, Famigliani G, Cappiello A. An overview of matrix effects in liquid chromatography–mass spectrometry. *Mass Spectrometry Reviews* 2010; doi: 10.1002/mas.20298. PMID:20973095. doi:10.1002/mas.20298
- 2 Funch FH. Analysis of residues of seven pesticides in some fruits and vegetables by means of high pressure

- liquid chromatography. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung A* 1981; 173:95. doi:10.1007/BF01042269
- 3 Mills PA, Onley JH, Guither RA. Rapid method for chlorinated pesticide residues in non fatty foods. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists* 1963; 50:430.
 - 4 Storherr RW, Ott P, Watts RR. A general method for organophosphorus pesticide residues in non fatty foods. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists* 1971; 54:513.
 - 5 Becker G. Simultaneous gas chromatographic determination of chlorinated hydrocarbons and phosphates in plant material. *Deutsche Lebensmittel-Rundschau* 1971; 67:125.
 - 6 Becker G. Multi method for simultaneous detection of 75 plant treatment preparations on plant material. *Deutsche Lebensmittel-Rundschau* 1979; 75:148.
 - 7 Luke MA, Doose GM. A modification of the Luke multiresidue procedure for low moisture, non fatty products. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 1983; 30:110. PMID:6831065. doi:10.1007/BF01610107
 - 8 Luke M, Froberg JE, Masumoto HE. Extraction and clean up of organochlorine, organophosphate, organonitrogen and hydrocarbon pesticides in produce for determination by gas-liquid chromatography. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists* 1975; 58:1020.
 - 9 Specht W, Tilkes M. Gas chromatographische bestimmung von rückständen an pflanzenbehandlungsmitteln nach clean-up über gel- chromatographie und minikieselgel-säulen-chromatographie. *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry* 1980; 301:300. doi:10.1007/BF00491426
 - 10 Anastasiades M, Scherbaum E. Multimethode zur bestimmung von pflanzenschutz- und Oberflächenbehandlungsmittel-rückständen in Zitrusfrüchten mittels GC-MSD: Teil 2: Untersuchung von Proben aus dem Handel. *Deutsche Lebensmittel-Rundschau*, 1997; 93:316.
 - 11 Specht W, Pelz S, Gilsbach W. Gas-chromatographic determination of pesticide residues after clean-up by gel-permeation chromatography and mini-silica-gelchromatography. *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry* 1995; 353:183. doi:10.1007/BF00322956
 - 12 Casanova JA. Use of solid-phase extraction disks for analysis of moderately polar and non polar pesticides in high-moisture foods. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists* 1996; 79:936. PMID:8757452.
 - 13 Schenck FJ, Callery PS, Gannett PM, Daft JR, Lehotay SJ. Comparison of magnesium sulfate and sodium sulfate for removal of water from pesticide extracts of foods. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists* 2002; 85:1177. PMID:12374418.
 - 14 Lee SM, Papatthakis ML, Hsiao-Ming CF, Carr JE. Multipesticide residue method for fruits and vegetables: California Department of Food and Agriculture. *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry* 1991; 339:376. doi:10.1007/BF00322352
 - 15 Fillion J, Sauve F, Selwyn J. Multiresidue Method for the Determination of Residues of 251 Pesticides in Fruits and Vegetables by Gas Chromatography/Mass Spectrometry and Liquid Chromatography with Fluorescence Detection. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists* 2000; 83:698. PMID:10868594.
 - 16 Lehotay SJ. Analysis of Pesticide Residues in Mixed Fruit and Vegetable Extracts by Direct Sample Introduction/Gas Chromatography/Tandem Mass Spectrometry. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists* 2000; 83:680. PMID:10868593.
 - 17 Lehotay SJ, Lightfield AR, Harman-Fetcho JA, Donoghue DJ. Analysis of Pesticide Residues in Eggs by Direct Sample Introduction/Gas Chromatography / Tandem Mass Spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2001; 49:4589. PMID:11599993. doi:10.1021/jf0104836
 - 18 Andersson A, Palsheden H. Comparison of the efficiency of different GLC multi-residue methods on crops containing pesticide residues. *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry* 1991; 339:365. doi: 10.1007/BF00322349
 - 19 Fernandez-Alba AR, Valverde A, Aguera A, Contreras M. Gas chromatographic determination of organochlorine and pyrethroid pesticides of horticultural concern. *Journal of Chromatography A* 1994; 686:263. doi:10.1016/0021-9673(94)00735-7
 - 20 Holstege DM, Scharberg DL, Tor ER, Hart LC, Galey FD. A rapid multiresidue screen for organophosphorus, organochlorine, and N-methyl carbamate insecticides in plant and animal tissues. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists* 1994; 77:1263. PMID:7950426.
 - 21 Camel V. Supercritical fluid extraction as a useful method for pesticides determination. *Journal of Chromatography A* 1998; 26:99.
 - 22 Papadakis EN, Vryzas Z, Papadopoulou-Mourkidou E. Rapid method for the determination of 16 organochlorine pesticides in sesame seeds by microwave-assisted extraction and analysis of extracts

- by gas chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 2006; 1127:6. PMID:16797565. doi:10.1016/j.chroma.2006.06.010
- 23 Singh SB, Foster GD, Khan SU. Microwave-Assisted Extraction for the Simultaneous Determination of Thiamethoxam, Imidacloprid, and Carbendazim Residues in Fresh and Cooked Vegetable Samples. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2004; 52:105. PMID:14709021. doi:10.1021/jf030358p
- 24 Carabias-Martinez R, Rodriguez-Gonzalo E, Revilla-Ruiz P, Hernandez-Mendez J. Pressurized liquid extraction in the analysis of food and biological samples. *Journal of Chromatography A* 2005; 1:1089.
- 25 Giergielewicz-Mozajska H, Dabrowski L, Namiesnik J. Accelerated Solvent Extraction (ASE) in the analysis of environmental solid samples—some aspects of theory and practice. *Critical Reviews in Analytical Chemistry* 2001; 31:149. doi:10.1080/20014091076712
- 26 Ramos L, Kristenson EM, Brinkman UAT. Current use of pressurised liquid extraction and subcritical water extraction in environmental analysis. *Journal of Chromatography A* 2002; 975:3. doi:10.1016/S0021-9673(02)01336-5
- 27 Barker SA. Application of matrix solid-phase dispersion in food analysis. *Journal of Chromatography A* 2000; 63:880.
- 28 Barker SA. Matrix solid-phase dispersion. *Journal of Chromatography A* 2000; 115:885.
- 29 Valsamaki VI, Boti VI, Sakkas VA, Albanis TA. Determination of organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls in chicken eggs by matrix solid phase dispersion. *Analytica Chimica Acta* 2006; 195:573.
- 30 Correia M, Delerue-Matos C, Alves A. Development of a SPME-GC-ECD methodology for selected pesticides in must and wine samples. *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry* 2001; 369:647.
- 31 Pawliszyn J. *Theory and practice*. New York: Wiley-VCH; 1997. PMID:11371065. doi:10.1007/s002160100762
- 32 Wardencki W, Michulec M, Curyło J. A review of theoretical and practical aspects of solid-phase microextraction in food analysis. *International Journal of Food Science & Technology* 2004; 39:703. doi:10.1111/j.1365-2621.2004.00839.x
- 33 Abbas KA, Mohamed A, Abdulmir AS, Abas HA. A review on supercritical fluid extraction as new analytical method. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology* 2008; 4:345. doi:10.3844/ajbb.2008.345.353
- 34 Lehotay SJ. Determination of Pesticide Residues in Nonfatty Foods by Percritical Extraction and Gas Chromatography/Mass Spectrometry: Collaborative Study. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists* 2002; 85:1148. PMID:12374416.
- 35 Camel V. Supercritical fluid extraction as a useful method for pesticides determination. *Journal of Chromatography A* 1998; 26:99.
- 36 Ling YC, Teng HC. Supercritical fluid extraction and clean-up of organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls in mussels. *Journal of Chromatography A* 1997; 790:153. doi:10.1016/S0021-9673(97)00734-6
- 37 Hyotylainen T, Tuutijarvi T, Kuosmanen K, Riekkola ML. Determination of pesticide residues in red wines with microporous membrane liquid-liquid extraction and gas chromatography. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 2002; 372:732. PMID:11941446. doi:10.1007/s00216-002-1242-x
- 38 Jakubowska N, Polkowska Z, Namiesnik J, Przyjazny A. Analytical Applications of Membrane Extraction for Biomedical and Environmental Liquid Sample Preparation. *Critical Reviews in Analytical Chemistry* 2002; 35:217. doi:10.1080/10408340500304032
- 39 Lambropoulou DA, Albanis TA. Liquid-phase microextraction in pesticide residue analysis. *Journal of Biochemical and Biophysical Methods* 2007; 70:195. PMID:17161462. doi:10.1016/j.jbbm.2006.10.004
- 40 Anastassiades M, Lehotay SJ, Stajnbaher D, Schenck FJ. Fast and Easy Multiresidue Method Employing Acetonitrile Extraction/Partitioning and “Dispersive Solid-Phase Extraction” for the Determination of Pesticide Residues in Produce. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists* 2003; 86:412. PMID:12723926.
- 41 Majors RE. QuEChERS — A New Technique for Multiresidue Analysis of Pesticides in Foods and Agricultural Samples. *LC-GC Europe* 2007; 20:574.
- 42 ISI Web of Knowledge [cited fev. 2011]. Available from: <http://www.isiknowledge.com>.
- 43 Maštovská K, Lehotay SJ. Evaluation of common organic solvents for gas chromatographic analysis and stability of multiclass pesticide residues. *Journal of Chromatography A* 2004; 259:1040.
- 44 Lehotay SJ, Lightfield AR, Harman-Fetcho JA, Donoghue DJ. Analysis of Pesticide Residues in Eggs by Direct Sample Introduction/Gas Chromatography/Tandem Mass Spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2001; 49:4589. PMID:11599993. doi:10.1021/jf0104836

- 45 Cook J, Becket MP, Reliford B, Hammock W, Engel M. residue analysis of pesticides in fresh fruits and vegetables using procedures developed by the Florida Department of Agriculture and Consumer Services. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists* 1999; 82:1419. PMID:10589496.
- 46 Analytical methods for pesticide residues in foodstuffs, general inspectorate for health protection. 6th ed. The Hage; 1996.
- 47 Stan HJ. Pesticide residue analysis in food stuffs applying capillary gas chromatography with mass spectrometric detection: State-of-the-art use of modified DFG-multimethod S19 and automated data evaluation. *Journal of Chromatography A* 2000; 892:347. doi:10.1016/S0021-9673(00)00308-3
- 48 Pizzutti IR, Kok A, Zanella R, Adaime MB, Hiemstra M, Wickert C, Prestes OD. Method validation for the analysis of 169 pesticides in soya grain, without clean up, by liquid chromatography–tandem mass spectrometry using positive and negative electrospray ionization. *Journal of Chromatography A* 2007; 1142:123. PMID:17222861. doi:10.1016/j.chroma.2006.12.030
- 49 Schenck FJ, Brown AN, Podhorniak LV, Parker A, Reliford M, Wong JW. A Rapid Multiresidue Method for Determination of Pesticides in Fruits and Vegetables by Using Acetonitrile Extraction/Partitioning and Solid-Phase Extraction Column Cleanup. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists* 2008; 91:422. PMID:18476358.
- 50 Koesukwiwat U, Sanguankaew K, Leepipatiboon N. Rapid determination of phenoxy acid residues in rice by modified QuEChERS extraction and liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta* 2008; 626:10. PMID:18761116. doi:10.1016/j.aca.2008.07.034
- 51 Saito Y, Kodama S, Matsunaga A, Yamamoto A. Multiresidue Determination of Pesticides in Agricultural Products by Gas Chromatography/Mass Spectrometry with Large Volume Injection. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists* 2004; 87:1356.
- 52 Ueno E, Oshima H, Saito I, Matsumoto H, Yoshimura Y, Nakazawa H. Multiresidue Analysis of Pesticides in Vegetables and Fruits by Gas Chromatography/Mass Spectrometry after Gel Permeation Chromatography and Graphitized Carbon Column Cleanup. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists* 2004; 87:1003.
- 53 Hyötyläinen T. On-line coupling of extraction with gas chromatography. *Journal of Chromatography A* 2008; 1186:39. PMID:18093609. doi:10.1016/j.chroma.2007.11.066
- 54 Beyer A, Biziuk M. Applications of sample preparation techniques in the analysis of pesticides and PCBs in food. *Food Chemistry* 2008; 108:669. doi:10.1016/j.foodchem.2007.11.024
- 55 Martinez Vidal JL, Garrido Frenich A. *Pesticides analysis in biotechnology*. USA: Humana Press; 2005.
- 56 Trihn A. Improve Sample Prep Selectivity through 96-well SPE method development Plates. *The Reporter* 2006; 19:12.
- 57 Shimelis O, Yang Y, Sternerson K, Kaneko T, Ye M. Evaluation of a solid-phase extraction dual-layer carbon/primary secondary amine for clean-up of fatty acid matrix components from food extracts in multiresidue pesticide analysis. *Journal of Chromatography A* 2007; 1165:18. PMID:17689545. doi:10.1016/j.chroma.2007.07.037
- 58 Martinez-Vidal JL, Arrebola-Liëbanas FJ, Gonzalez-Rodriguez MJ, Garrido-Frenich A, Fernández-Moreno, JL. Validation of a gas chromatography/triple quadrupole mass spectrometry based method for the quantification of pesticides in food commodities. *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, 2005; 20:365. PMID:16372385. doi:10.1002/rcm.2315
- 59 Lehotay SJ, Hiemstra M, Bodegraven P, Kok A. Validation of a Fast and Easy Method for the Determination of Residues from 229 Pesticides in Fruits and Vegetables Using Gas and Liquid Chromatography and Mass Spectrometric Detection. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists* 2005; 88:595.
- 60 QuEChERS [cited in fev. 2011]. Available from: <http://www.quechers.com>.
- 61 Payá P, Anastassiades M, Mack D, Sigalova I, Tsdelen B, Oliva J et al. Analysis of pesticide residues using the Quick Easy Cheap Effective Rugged and Safe (QuEChERS) pesticide multiresidue method in combination with gas and liquid chromatography and tandem mass spectrometric detection. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 2007; 389:1697. PMID:17909760. doi:10.1007/s00216-007-1610-7
- 62 Lehotay SJ, Mastovská K, Lightfield AR. Use of Buffering and Other Means to Improve Results of Problematic Pesticides in a Fast and Easy Method for Residue Analysis of Fruits and Vegetables. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists* 2005; 88:615.
- 63 Anastassiades M, Scherbaum E, Tsdelen B, Stajnbaher D. *Crop protection, public health, environmental safety*. Weinheim, Germany: Wiley-VCH; 2007.
- 64 Majors RE. LCGC [cited fev 2011] Available from: <http://chromatographyonline.findanalytichem.com/lcgc>.

- 65 Lehotay SJ, Mastovska K, Lightfield AR. Use of Buffering and Other Means to Improve Results of Problematic Pesticides in a Fast and Easy Method for Residue Analysis of Fruits and Vegetables. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists* 2005; 88:615.
- 66 AOAC International. *Official method 2007.01: pesticide residues in foods by acetonitrile extraction and partitioning with magnesium sulphate*. AOAC International; 2007.
- 67 European Committee for Standardization. *CEN, CEN/TC 275 15662:2008: foods of plant origin - Determination of pesticide residues using GC-MS and/or LC-MS/MS following acetonitrile extraction/partitioning and clean-up by dispersive SPE - QuEChERS-method*. European Union; 2008.
- 68 Lehotay SJ, Mastovska K, Yun SJ. Evaluation of Two Fast and Easy Methods for Pesticide Residue Analysis in Fatty Food Matrixes. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists* 2005; 88:630.
- 69 Cunha SC, Lehotay SJ, Mastovska K, Fernandes JO, Oliveira BMPP. Evaluation of the QuEChERS sample preparation approach for the analysis of pesticide residues in olives. *Journal of Separation Science* 2007; 30:620. PMID:17444232. doi:10.1002/jssc.200600410
- 70 Mastovska K, Dorweiler KJ, Lehotay SJ, Wegscheid JS, Szyplka KA. Pesticide Multiresidue Analysis in Cereal Grains Using Modified QuEChERS Method Combined with Automated Direct Sample Introduction GC-TOFMS and UPLC-MS/MS Techniques. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2010; 58:5959. PMID:20028018. doi:10.1021/jf9029892
- 71 Lehotay SJ, Son KA, Kwon H, Koesukwiwat U, Fu W, Mastovska K et al. Comparison of QuEChERS sample preparation methods for the analysis of pesticide residues in fruits and vegetables. *Journal of Chromatography A* 2010; 1217:2548. PMID:20144460. doi:10.1016/j.chroma.2010.01.044
- 72 Koesukwiwat U, Lehotay SJ, Mastovska K, Dorweiler KJ, Leepipatpiboon N. Extension of the QuEChERS Method for Pesticide Residues in Cereals to Flaxseeds, Peanuts, and Doughs. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2010; 58:5950. PMID:20025276. doi:10.1021/jf902988b
- 73 Lehotay SJ. Quick, easy, cheap, effective, rugged, and safe approach for determining pesticide residues. In: Martinez Vidal JL, Garrido Frenich A, eds. *Pesticide protocols*. Totowa, NJ, USA: Humana Press; 2006. p. 239. Methods in biotechnology series 19.
- 74 Lehotay SJ. QuEChERS Sample Preparation Approach for Mass Spectrometric Analysis of Pesticide Residues in Foods. In: Zweigenbaum J, ed. *Mass Spectrometry in Food Safety*. Totowa, NJ, USA: Humana Press; 2010. Methods and Protocols (Methods in Molecular Biology).
- 75 Martínez-Galera M, Gil-García MD, Santiago-Valverde R. Determination of photoirradiated high polar benzoylureas in tomato by HPLC with luminol chemiluminescence detection. *Talanta* 2008; 76:815. PMID:18656664. doi:10.1016/j.talanta.2008.04.052
- 76 Hernández-Borges J, Cabrera JC, Rodríguez-Delgado MA, Hernández-Suarez EM, Saúco VG. Analysis of pesticide residues in bananas harvested in the Canary Islands (Spain). *Food Chemistry* 2009; 113:313. doi:10.1016/j.foodchem.2008.07.042
- 77 Barakat AA, Badawy HMA, Salama E, Attallah E, Maatook G. Simple and rapid method of analysis for determination of pesticide residues in honey using dispersive solid phase extraction and GC determination. *Journal of Food Agriculture and Environment* 2007; 5:97.
- 78 Lehotay S. Determination of Pesticide Residues in Foods by Acetonitrile Extraction and Partitioning with Magnesium Sulfate: Collaborative Study. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists* 2007; 90:485.
- 79 Hiemstra M, Kok A. Comprehensive multi-residue method for the target analysis of pesticides in crops using liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 2007; 1154:3. PMID:17442324. doi:10.1016/j.chroma.2007.03.123
- 80 Fernández-Alba AR. *Chromatographic - mass spectrometry food analysis for trace determination of pesticide residues*. Amsterdam: Elsevier; 2005.
- 81 García-Reyes JF, Ferrer C, Gomez-Ramos MJ, Molina-Díaz A, Fernández-Alba AR. Determination of pesticide residues in olive oil and olives. *Trends in Analytical Chemistry*, 2007; 26:239. doi:10.1016/j.trac.2007.01.004
- 82 Prestes OD, Friggi CA, Adaime MB, Zanella R. QuEChERS - Um método moderno de preparo de amostra para determinação multirresíduo de pesticidas em alimentos por métodos cromatográficos acoplados à espectrometria de massas. *Química Nova* 2009; 32:1620. doi:10.1590/S0100-40422009000600046
- 83 Ramalhosa MJ, Paiga P, Morais S, Delerue-Matos C, Oliveira MB. Analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in fish: evaluation of a quick, easy, cheap, effective, rugged, and safe extraction method. *Journal of Separation Science* 2009; 32:3529. PMID:19750509. doi:10.1002/jssc.200900351
- 84 Mastovska K, Lehotay SJ. Rapid Sample Preparation Method for LC-MS/MS or GC-MS Analysis of

- Acrylamide in Various Food Matrices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2006; 54:7001.
- 85 Stubbings G, Bigwood T. The development and validation of a multiclass liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) procedure for the determination of veterinary drug residues in animal tissue using a QuEChERS (QUick, Easy, CHEap, Effective, Rugged and Safe) approach. *Analytica Chimica Acta* 2009; 68:637.
- 86 Keegan J, Whelan M, Danaher M, Crooks S, Sayers R, Anastasio A. Benzimidazole carbamate residues in milk: Detection by Surface Plasmon Resonance-biosensor, using a modified QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe) method for extraction. *Analytica Chimica Acta* 2009; 654:111.
- 87 Fagerquist CF, Lightfield AR, Lehotay SJ. Confirmatory and Quantitative Analysis of β -Lactam Antibiotics in Bovine Kidney Tissue by Dispersive Solid-Phase Extraction and Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry. *Analytical Chemistry* 2005; 77:1473.
- 88 Costain RM, Fesser AC, McKenzie D, Mizuno M, Macneil JD. Identification of hormone esters in injection site in muscle tissues by LC/MS/MS. *Food Additives & Contaminants*. 2008; 21:10.
- 89 Plossl F, Giera M, Bracher F. Multiresidue analytical method using dispersive solid-phase extraction and gas chromatography/ion trap mass spectrometry to determine pharmaceuticals in whole blood. *Journal of Chromatography A* 2006; 1135:19. PMID:17049535. doi:10.1016/j.chroma.2006.09.033
- 90 Lacina O, Urbanová J, Krplová A, Hajslová J. Multi-residue method for the analysis of pesticides and mycotoxins in cereals by Lc-Ms/Ms. *Chemické Listy* 2008; 102:s404.
- 91 Mol HGJ, Plaza-Bolaños P, Zomer O, Rijk TC, Stolker AAM, Mulder PPJ. Toward a Generic Extraction Method for Simultaneous Determination of Pesticides, Mycotoxins, Plant Toxins, and Veterinary Drugs in Feed and Food Matrixes. *Analytical Chemistry* 2008; 80:9450. PMID:19072261. doi:10.1021/ac801557f

Recebido: 17/02/2011

Aceito: 13/03/2011