



ESTUDO E VALIDAÇÃO DE MÉTODO DE ANÁLISE DA BOLDINA POR CLAE

Aparecida Moreira da Silva
Bruna Messias da Silva
Cinthia de Fátima Ravani
Eduardo Velozo Cirqueira
Julia Mohamed Saad Lima El Toghlobi
Tawane Henrique de Barros Moura
Orientadora: Prof^ª Thais Taciano dos Santos
Coorientador: Prof^º Dr. Fábio Rizzo de Aguiar

RESUMO

No decorrer deste trabalho buscamos por meio da metodologia de extração por maceração e infusão determinar e quantificar a presença de boldina em amostras de boldo-do-chile (*Peumus boldus molina*) e boldo-de-jardim (*Plectranthus barbatus*), a fim de verificar se a quantidade comprovada por meio da literatura estaria dentro do que se consideraria aceitável para fins fitoterápicos direcionados para doenças gastrointestinais. Foram realizados três lotes de extrações de boldo-do-chile e de boldo-de-jardim. E as análises para a quantificação da boldina foram em triplicatas, as amostras foram analisadas através de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), que serve para separar, identificar e quantificar os componentes de uma amostra. Utilizando as figuras de mérito, linearidade, limite de quantificação e limite de detecção, pelo método é possível quantificar boldina, visto que apresentou um excelente resultado podendo ser detectada com certo limite de confiabilidade. No entanto nas devidas condições de extração diante desse trabalho não houve resultados nas amostras analisadas.

Palavras-chave: boldo-do-chile (*Peumus boldus Molina*), boldo-de-jardim (*Plectranthus barbatus*), Boldina e Extração.

ABSTRACT

In the course of this work, we sought, through the method of extraction by maceration and infusion, to determine and quantify the presence of boldine in samples of boldo-do-chile (*Peumus boldus molina*) and boldo-de-jardim (*Plectranthus barbatus*), to verify whether the amount suggested in the literature would be within what would be considered acceptable for herbal purposes directed at gastrointestinal diseases. Three batches of boldo-do-chile and boldo-de-jardim extractions were carried out. And the analyzes for the quantification of boldine were in triplicates, the samples were analyzed through High Performance Liquid Chromatography (HPLC), which serves to separate, identify and quantify the components of a sample. Using the figures of merit, linearity, limit of quantification and limit of detection, the method is possible to quantify boldine, since it presented an excellent result and can be detected with a certain limit of reliability. However, under the proper extraction conditions in the face of this work, there were no results in the analyzed samples.

Keywords: Boldo from Chile, Boldo from garden, Boldine and Extraction.

¹ Curso Técnico em Química – ETEC Irmã Agostina

Av. Feliciano Correa s/n – Jardim Satélite - CEP 04815-240 - São Paulo Brasil.

Recebido em: 02/12/2022

Apresentado à banca em: 07/12/ 2022

1. INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas o interesse por plantas medicinais tem sido crescente em todo mundo, principalmente depois de um período em que a química sintética trouxe grandes avanços no desenvolvimento de novos medicamentos (COSTA 2006). Durante a primeira metade do século XX, acreditava-se que tudo poderia ser sintetizado em laboratório, as plantas, ainda hoje, continuam sendo fonte importante de substâncias farmacológicas ativas (FERNANDES 2004).

Há dados que demonstram que há mais de 60 mil anos plantas vem sendo utilizadas com fins fitoterápicos, e no Brasil os povos indígenas, africanos e europeus são responsáveis pela medicina popular com uso das plantas (REZENDE e COCCO, 2002). Este conhecimento vem sendo transmitido entre gerações, fazendo com que a Ciência Moderna busque confirmar através de estudos e análises, os princípios ativos, os benefícios e os malefícios que podem ser causados com o uso em excesso de plantas medicinais.

O boldo-do-chile (*Peumus boldus Molina*) é uma planta nativa das regiões central e sul do Chile, pertencente à família *Monimiaceae*, que compreende de 25 a 30 gêneros e aproximadamente 300 espécies (COSTA, 2017) e foi descrito botanicamente pela primeira vez por Abbe Molina há dois séculos (SPEISKY & CASSELS, 1994). O boldo-do-chile está incluso entre as espécies de ervas medicinais mais utilizadas pela população mundial e essa erva costuma ser consumida no Brasil em função do seu amplo efeito farmacológico com ação antioxidante, anti-inflamatória, hepatoprotetora, antimicrobiana, antifúngica, anti-helmíntica e diurética. (ARGENTA, et al, 2011).

No Brasil o boldo-de-jardim é facilmente encontrado e constantemente confundido com o boldo-do-chile pela similaridade de aroma, sabor e por ambos aliviarem sintomas de disfunções gastrointestinais. O boldo-de-jardim é uma planta medicinal amplamente utilizada com efeito terapêutico para dores de estômago, este tipo de boldo também é conhecido como boldo brasileiro e pertence à família *Monimiaceae*. Embora o boldo-de-jardim seja popular entre as famílias brasileiras este não consta no catálogo da farmacopéia brasileira. Embora tenha sido listado na Relação Nacional de Plantas Medicinais de interesse ao SUS (RENISUS), que visa orientar estudos e pesquisas sobre fitoterápicos disponíveis para uso da população com a intenção de gerar segurança sobre seu consumo.

O boldo-de-jardim é constituído por diterpenoides, compostos fenólicos e óleos essenciais, e seu componente principal em extratos aquosos é o ácido rosmarínico, sendo considerado

o responsável pela capacidade inibitória da enzima acetilcolinesterase e pela atividade antioxidante da planta. Nos preparados em forma de infusão, as ações digestivas do boldo-de-jardim que são apontadas pela população, circundam desde a proteção gástrica, ao aumento da salivagem e das secreções hepáticas biliares (COSTA, 2017). Por ser utilizado frequentemente em substituição ao boldo-do-chile, esta planta nos despertou o interesse para analisar amostras em busca de boldina.

Essas propriedades farmacológicas e alguns de seus efeitos tóxicos estão obviamente, associados à sua composição química, e conhecimento de que nesta encontrasse óleos essenciais que são taninos, fenóis glicosilados, saponinas, flavonoides e alcaloides em sua maioria. Os alcaloides são aminas cíclicas que possuem na sua estrutura átomos de nitrogênio como demonstrada na figura 1, são drogas naturais que atuam diretamente no sistema nervoso do ser humano, o que permite seu uso em medicamentos devendo ser usado com restrição.

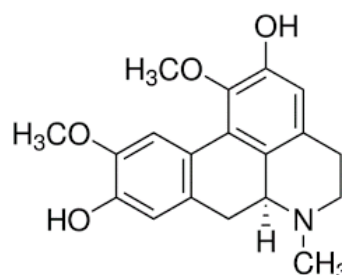


Figura 1: Estrutura química da Boldina

A boldina é o principal alcaloide encontrado tanto nas folhas como nas cascas do boldo, a concentração nas folhas em torno de 0,14%, e nas cascas de até 6% (QUEZADA et al., 2004). Sendo responsável pela maioria das atividades promotoras de saúde descritas do extrato do boldo, que tradicionalmente foi usado para tratar uma grande variedade de doenças e sintomas, incluindo dor de cabeça, reumatismo, dispepsia, infecções do trato urinários e distúrbio do sono (O'BRIEN et al., 2006).

Segundo Fonseca (2005) para extrair das plantas o princípio ativo de interesse é necessário isolá-lo de alguma forma, resultando no extrato mais puro e concentrado possível, seja por técnicas rudimentares e extração, como infusão em água, passando pelo uso de solvente orgânicos até técnicas que empregam alta tecnologia como extração com fluido supercrítico.

Na maioria dos trabalhos encontrados na literatura a técnica analítica empregada para a quantificação da boldina é a Cromatografia Líquida

de Alta Eficiência (CLAE) que é um detector responsável por converter uma propriedade física ou química em um sinal mensurável. É uma técnica analítica utilizada para separar, identificar e quantificar cada componente presente na mistura a ser analisada (EDIVAN et al, 2002).

Tivemos como objetivo deste trabalho desenvolver e validar um método analítico utilizando CLAE para a quantificação da boldina em extratos de folhas de boldo, extrair boldina do boldo-do-chile e do boldo-de-jardim por diferentes métodos.

2. METODOLOGIA

2.1. Materiais

Para fins analíticos foram utilizados os seguintes materiais, equipamentos e vidrarias: balança analítica; chapa de aquecimento; estufa de temperatura variável; pipeta automática 1000 µl (volume variável); bico de Bunsen; béquer; balão volumétrico 100mL, 25 mL, 10 mL; proveta; frasco âmbar; ponteiras plásticas; pipeta Pasteur; espátula com colher de aço inox; suporte universal; funil; anel de ferro; papel filtro quantitativo, plástico filme pvc e seringa. Os procedimentos foram realizados com os seguintes reagentes: água destilada, metanol HPLC (Dinâmica) e etanol P.A. (Synth) e ácido clorídrico P.A. (Synth). Todas as vidrarias, equipamentos e reagentes utilizados na prática foram fornecidos pela estrutura da Escola técnica Irmã Agostina.

2.1.1. Material vegetal

As folhas desidratadas de boldo-do-chile utilizadas para desenvolvimento das análises foram obtidas de dois fornecedores de casas de produtos naturais, a primeira obtida em “Gabriela Produtos Naturais” em Vila Natal (São Paulo- Sp) denominada como lote B, e “Planta & Saúde Vila São José” em São José (São Paulo -Sp) denominada como lote C. As folhas in natura de boldo-de-jardim foram obtidas de uma única fonte de cultivo do arbusto, em casa. Após a colheita de todas as folhas passaram por lavagem e secagem com papel toalha sem aplicação de atrito e separadas para posterior utilização denominado como lote A.

2.1.2. Boldina

A boldina utilizada como padrão de referência foi adquirida junto a empresa fornecedora Sigma com pureza 98%.

2.2. Métodos

Foram realizadas duas técnicas de extração, em cada uma delas, produzimos três lotes de extratos. A análise para a quantificação via CLAE foi realizada em triplicata.

2.2.1. Preparo dos extratos por Infusão

Os extratos foram preparados utilizando aproximadamente 2 g das folhas cortadas em 50 mL de água destilada em ebulição, devidamente identificados com os números “1, 2 e 3”. Após esse processo foram lacrados com plástico filme PVC, por 5 minutos boldo-de-jardim e 10 minutos boldo-do-chile (FONSECA, 2005). Após a filtração os extratos foram transferidos para o frasco âmbar e armazenados na geladeira até o período da análise.

2.2.2. Preparo dos extratos por maceração com ácido clorídrico 0,1 mol. L⁻¹

O método de extração por maceração consiste em colocar uma substância em contato com um líquido extrator durante um período (FONSECA, 2005). Os extratos foram preparados utilizando aproximadamente 2 g de folhas de boldo-de-jardim cortadas em 50 mL de ácido clorídrico, devidamente identificados com os números “1, 2, 3”. Após esse processo foram lacrados com plástico filme PVC, armazenados na geladeira por 48 horas. Após a filtração os extratos foram transferidos para o frasco âmbar e armazenados na geladeira até o período da análise.

2.2.3. Preparo dos extratos por maceração por ácido clorídrico 8% boldo-do-chile

Os extratos foram preparados utilizando aproximadamente 2 g de folhas de boldo-do-chile cortadas em 50 mL de ácido clorídrico, devidamente identificados com os números “1, 2, 3”, levando ao banho maria por 30 minutos. Após a filtração realizou-se novamente o processo, os extratos foram transferidos para o frasco âmbar e armazenados na geladeira até o período de análise. (SCHWANZ,2006).

2.2.4. Preparo dos extratos por maceração por Etanol

Os extratos foram preparados utilizando aproximadamente 2 g das folhas cortadas em 50 mL de etanol, devidamente identificados com os números “1, 2 e 3”. Após esse processo foram lacrados com plástico filme PVC, por 48 horas boldo-de-jardim e 24 horas boldo-do-chile (FONSECA, 2005). Após a filtração os extratos foram transferidos para o frasco âmbar e armazenados na geladeira até o período da análise.

2.3. Quantificação da boldina

A análise da Boldina presente nas amostras foi feita por cromatografia utilizando-se um equipamento Jasco, PU- 4180, RHPLC Pump (Extrema), modelo: LC-NetII/ADC, número de série: A032261868 (Laboratório Instrumental, Etec Irmã Agostina) e detector UV/VIS Detector - 4070. Foi utilizada coluna analítica Inertsil ODS (4.6x150mm, 5µm). Para a execução das análises cromatográficas foi utilizado fase móvel Metanol: água deionizada (65:35).

2.4. Condições cromatográficas

Os parâmetros utilizados nas análises cromatográficas estão descritos na tabela 1, utilizando o metanol como fase móvel o que acarretou um curto tempo de retenção.

Tabela 1: Parâmetro definido para a análise cromatográfica dos extratos da espécie *Plectranthus barbatus* e *Peumus boldus*.

| Características | Descrição |
|---------------------|-----------------------------------|
| Cromatógrafo | Jasco PU- 4180 |
| Detector | Jasco UV-4070 |
| Coluna | Nova- park C18 ¹ |
| Pré- coluna | Lichopher Merck ² |
| Sistema de eluição | Isocrático |
| Fase móvel | Metanol/ H ₂ O (65:35) |
| Vazão | 0,1 mL/min |
| Volume da injeção | 20 µl |
| Comprimento de onda | 305 nm (CLAE/DAD) |

2.5. Curva analítica CLAE

Realizou-se uma solução estoque de Boldina da Sigma com pureza 98% a 1 g.L⁻¹, a solução foi preparada dissolvendo 0,1039g do padrão em aproximadamente 20 mL MeOH/ H₂O (65:35) em um béquer até total dissolução. Após transferiu-se a solução para o balão volumétrico de 100 mL e completou-se o volume com a solução de MeOH/ H₂O.

Foram realizadas três curvas analíticas e para cada curva foi preparado seis soluções padrões nas seguintes concentrações: 0,5; 0,4; 0,3; 0,2; 0,1; 0,05 g.L⁻¹ a partir da solução estoque de 1 g.L⁻¹, em balões volumétricos de 10 mL. Cada balão foi completado com solução de MeOH/ H₂O (65:35). O tempo de corrida utilizado para a análise

foi de 6 minutos. O comprimento de onda utilizado foi de 305 nm.

2.6. Linearidade

A linearidade é um parâmetro de um método analítico que possui a capacidade de fornecer respostas analíticas proporcionais a concentração a ser determinada.

2.7. Limite de quantificação

O limite de quantificação é proposto a partir da menor quantidade do analito em uma a mostra que pode ser determinada com precisão e exatidão considerável. Ou seja, a menor concentração do material a ser analisado podendo ser determinado quantitativamente.

2.8. Limite de detecção

É a menor quantidade ou concentração de transgênicos em uma amostra que pode ser detectada, com 99% de confiança, porém não é necessariamente quantificada.

Essas figuras de mérito estão relacionadas a validação do método, para quantificação precisa que garante a confiabilidade nas análises.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1 Resultados referente a validação do método.

Ao analisar as curvas analíticas foram obtidos os tR: 3,470. Houve variações nas concentrações, devido a transferência de líquido da pipeta automática na preparação dos padrões, entretanto, é possível evidenciar a eficiência da linearidade na curva analítica. As curvas citadas acima podem ser encontradas no apêndice A.

As curvas analíticas da metodologia de quantificação da boldina pela cromatografia estão representadas nos gráficos 1,2 e 3 abaixo:

Gráfico 1: Curva analítica 1 padrão de Boldina (CLAE)

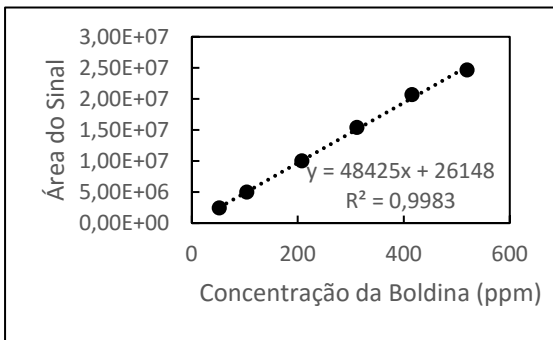


Gráfico 2: Curva analítica 2 padrão de Boldina (CLAE)

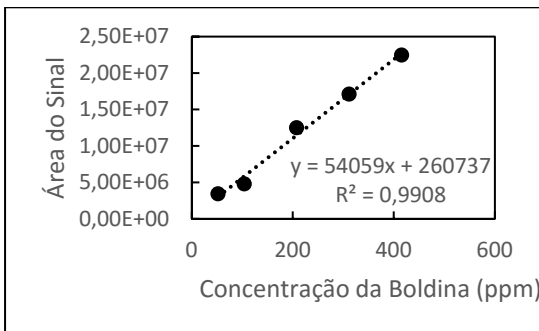
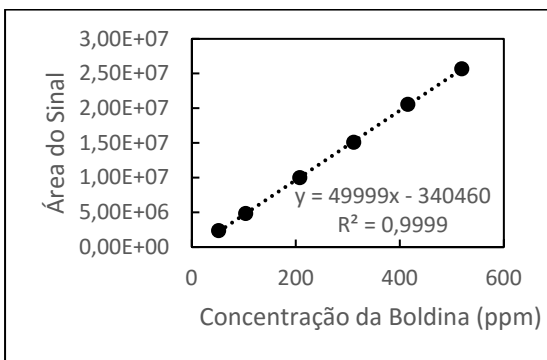


Gráfico 3: Curva analítica 3 padrão de Boldina (CLAE)



Partindo desse princípio calculamos a média da linearidade das três curvas analíticas utilizando os dados de R² conforme a tabela 2:

Tabela 2: R² das curvas de calibrações

| Figuras | R2 |
|---------------------------|--------|
| 1 | 0,9983 |
| 2 | 0,9908 |
| 3 | 0,9999 |
| $\overline{R^2} = 0,9963$ | |

Diante dos dados apresentados, quanto mais próximo de 1, maior a linearidade da relação entre a Área do sinal cromatográfico e a

concentração do analito. Logo, para cada uma das curvas individuais, nota-se excelente linearidade.

A análise do $\overline{R^2} = 0,9963$ nos mostra que, o método de análise da boldina realizado, e aqui proposto, explica 99,63% dos resultados.

O limite de quantificação, foi calculado a partir de 0,05g.L⁻¹, seguindo os dados da Tabela 3:

Tabela 3: Limite de quantificação da boldina

| Ensaio | Área do Padrão | Coefficiente angular |
|--------|----------------|----------------------|
| 1 | 2421474 | 48425 |
| 2 | 3424971 | 54059 |
| 3 | 2370724 | 49999 |
| | 594561 | 50828 |

Realizou-se o cálculo a seguir, aplicando a Fórmula 1:

$$LQ = \frac{10 \cdot s_1}{a} \quad (\text{Fórmula 1})$$

$$LQ = \frac{10 \cdot 594561}{50828} = 116,97 \text{ ppm}$$

Para que a amostra analisada seja quantificada com maior precisão e exatidão consideráveis, é necessário que o padrão se apresente acima de 116,97 ppm, para que haja excelentes dados. Visto que o padrão de boldina a 50 ppm, proposto não apresenta uma precisão e exatidão para realização de análises.

O limite de detecção foi calculado a partir da área do branco, seguindo os dados da Tabela 4:

Tabela 4: Limite de detecção da boldina

| Ensaio | Área do Branco | Coefficiente angular |
|--------|----------------|----------------------|
| 1 | 26148 | 48425 |
| 2 | 260737 | 54059 |
| 3 | 240460 | 49999 |
| | 163391 | 50828 |

Foi realizado do cálculo a seguir, aplicando a Fórmula 2:

$$LD = \frac{3 \cdot s_1}{\bar{a}} \quad (\text{Fórmula 2})$$

$$LD = \frac{3 \cdot 163391}{50828} = 9,64 \text{ ppm}$$

O limite de detecção é de 9,64 ppm, visto que o padrão proposto apresenta um excelente resultado podendo ser detectada com certo limite de confiabilidade.

Resultados dos extratos

Na busca por quantificar o composto, foi utilizado alternativas para extração da boldina no boldo-do-chile e boldo-de-jardim, efetuando extração por infusão e maceração.

Pelo processo de infusão de 10 minutos no boldo-do-chile desidratado obteve o tR 3,522 do padrão ao observar o cromatograma (Apêndice B - Figura 4) fica demonstrado que pelo processo de infusão não observamos boldina, o que se explica segundo a farmacopeia Brasileira, na qual fala que a boldina possui pouca solubilidade em H₂O.

Na extração de maceração em HCl 8%, obtemos o tR: 3,012 do padrão e como podemos analisar no cromatograma (Apêndice B - Figura 5) é evidente que a curva estourou, e isso ocorreu devido a amostra estar muito acidificada, ultrapassando o sinal do padrão.

Para eventuar nova leitura com maceração HCl 8% a fim de comprovar a presença da boldina protonada, neutralizamos com solução de NaOH 40% até atingir o pH 11, apresentando o tR 3,012 do padrão, e não foi possível pelo método a identificação da boldina. Podendo ser verificado na figura 6 no apêndice B.

No método de extração de maceração em etanol por 24 horas, apresentou o tR 3,012 do padrão ao analisar o cromatograma (Apêndice B - Figura 7) fica possível verificar que nas condições de extração em etanol proposto não apresentou boldina.

Através do processo de infusão de 5 minutos no boldo-de-jardim in natura obteve o tR 4,019 do padrão, e podemos analisar o resultado obtido no cromatograma (Apêndice B - Figura 8) e é possível identificar pico no início da análise, supõe que composto presente no processo de extração por infusão é mais polar que a boldina, apresentando a curva.

Por meio de maceração em etanol, armazenado por 48 horas, obteve o tR: 3,541 ao observar o cromatograma (Apêndice B - Figura 9) apresenta no começo dois picos de compostos, no entanto supõe que esses compostos presentes no

processo de extração por maceração em etanol são mais polares que a boldina.

Por meio de maceração em HCl, armazenado por 48 horas, obteve o tR: 3,398 e ao analisar o cromatograma (Apêndice B - Figura 10), apresenta no início pico de um composto, no entanto supõe que o composto presente no processo de extração por HCl é mais polar que a boldina.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Concluimos que diante dos métodos de extrações realizados de infusão e maceração, não foi possível a identificação da boldina nas amostras produzidas, presente nas folhas de boldo-do-chile e boldo-de-jardim.

Na tentativa de usar solvente Metanol/ H₂O (65:35) como fase móvel, foi possível a identificação do padrão fornecido.

Entre toda via, diante das figuras de méritos realizadas, para que haja uma excelente precisão e exatidão na leitura o limite para a quantificação no equipamento é acima de 116,97 ppm e no limite de detecção é de 9,64 ppm, visto que o padrão proposto apresenta um excelente resultado podendo ser detectada com certo limite de confiabilidade.

É necessário um estudo mais aprofundado, sobre um método mais eficiente de extração da boldina. Além de estudos mais detalhados sobre a diferença entre boldo-do-chile e boldo-de-jardim e seus princípios ativos, pois a utilização desses materiais vegetais pela população está relacionada diretamente ao uso para tratamentos de doenças gastrointestinais.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos primeiramente a Deus por ter nos dado saúde e energia para concluir todo esse trabalho. Agradecemos também aos nossos familiares que nos incentivaram durante todo o curso. E agradecemos principalmente aos Professores Thais Taciano dos Santos e Dr. Fábio Rizzo de Aguiar que contribuiu para que esse trabalho se realizasse participando da execução de diversas etapas decisivas do projeto.

REFERÊNCIAS

BRASIL, Farmacopéia Brasileira. 4. ed. São Paulo: Editora Atheneu, 1996. v.1

COSTA, M. C. C. D. **Uso popular e ações farmacológicas de *Plectranthus barbatus* Andr.**

(Lamiaceae): revisão de trabalhos publicados de 1970 a 2003. Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, Botucatu, v. 8, n. 2, p. 81-88, 2006.

CONSELHO FEDERAL DE FARMÁCIA - CFF, **Saúde elabora Relação de Plantas Mediciniais de Interesse do SUS- RENISUS**, Pharmacia Brasileira, ano XII, n.70, p.77-78, 2009.

COSTA, Fernando Henrique Marques; **CARACTERIZAÇÃO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DE EXTRATOS DE BOLDOS IN NATURA E PRODUTOS COMERCIAIS DERIVADOS DO BOLDO**, UFVJ; Diamantina, p.25. 2017.

MERCH, **Boldine**; Disponível em :<
<https://www.sigmaaldrich.com/BR/pt/product/sial/b3916>> acesso em: 29 de maio de 2022.

REZENDE, Helena Aparecida de; COCCO, Maria Inês M. **A utilização de fitoterapia no cotidiano de uma população rural.** Rev Esc Enferm USP 2002; 36(3): 282-8

O'BRIEN, P., CARRASCO-POZO, C., SPEISKY, H. **Boldine and its antioxidante or health-promoting Properties.** Chemico-Biological Interactions,2006.

SPEISKY, H.; CASSELS, B. K. **Pharmacol. Res.** 29: 1-11, 1994.

FONSÊCA, Said Gonçalves da Cruz; **Farmacotécnica de Fitoterápicos** – Laboratório de Farmacotécnica; Departamento de Farmácia- FFOE/UFC, 2005.

ARGENTA, Sheila Crestanello, ARGENTA, Leila Crestanello, GIACOMELLI, Sandro Rogério, CEZAROTTO, Verciane Schneider; **PLANTAS MEDICINAIS: CULTURA POPULAR** Vivências: Revista Eletrônica de Extensão da URI ISSN 1809-1636. Vol.7, N.12: p.51-60, Maio/2011.

FERNANDES, TM. **Plantas medicinais: memória da ciência no Brasil** [online]. Rio de Janeiro: FIOCRUZ, 2004. 260 p. ISBN 978-85-7541-348-7. Available from SciELO Books

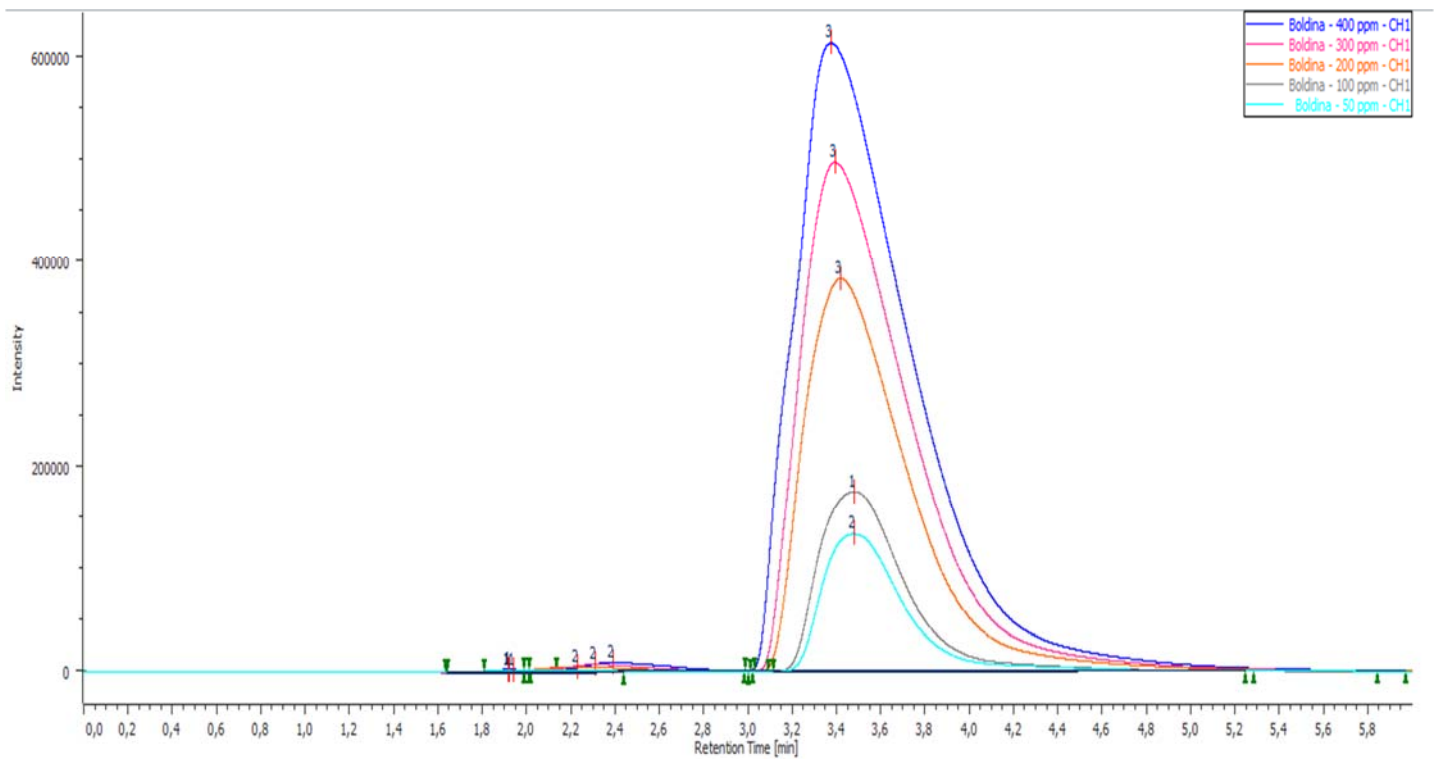
QUEZADA, M., et al. **Antioxidant activity of crude extract, alkaloid fraction, and flavonoid fraction from boldo (Peumus boldus Molina) leaves**, J. Food Sci. v.69, p.371–376, 2004.

SCHWANZ, Melissa: **Desenvolvimento e Validação de Método Analítico para Quantificação da Boldina em Peumus boldus Mol.(Monimiaceae) e Avaliação Preliminar de sua Estabilidade** – Porto Alegre UFRGS, 2006.

EDIVAN Tonhi, Kenneth E. COLLINS, Isabel C. S. F. Jardim e Carol H. Collins; **FASES ESTACIONÁRIAS PARA CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA EM FASE REVERSA (CLAE-FR) BASEADAS EM SUPERFÍCIES DE ÓXIDOS INORGÂNICOS FUNCIONALIZADOS-** Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, CP 6154, 13083-970 Campinas – SP- Quim. Nova, Vol. 25, No. 4, 616-623, 2002.

APÊNDICE A – CURVA ANALÍTICA DA BOLDINA

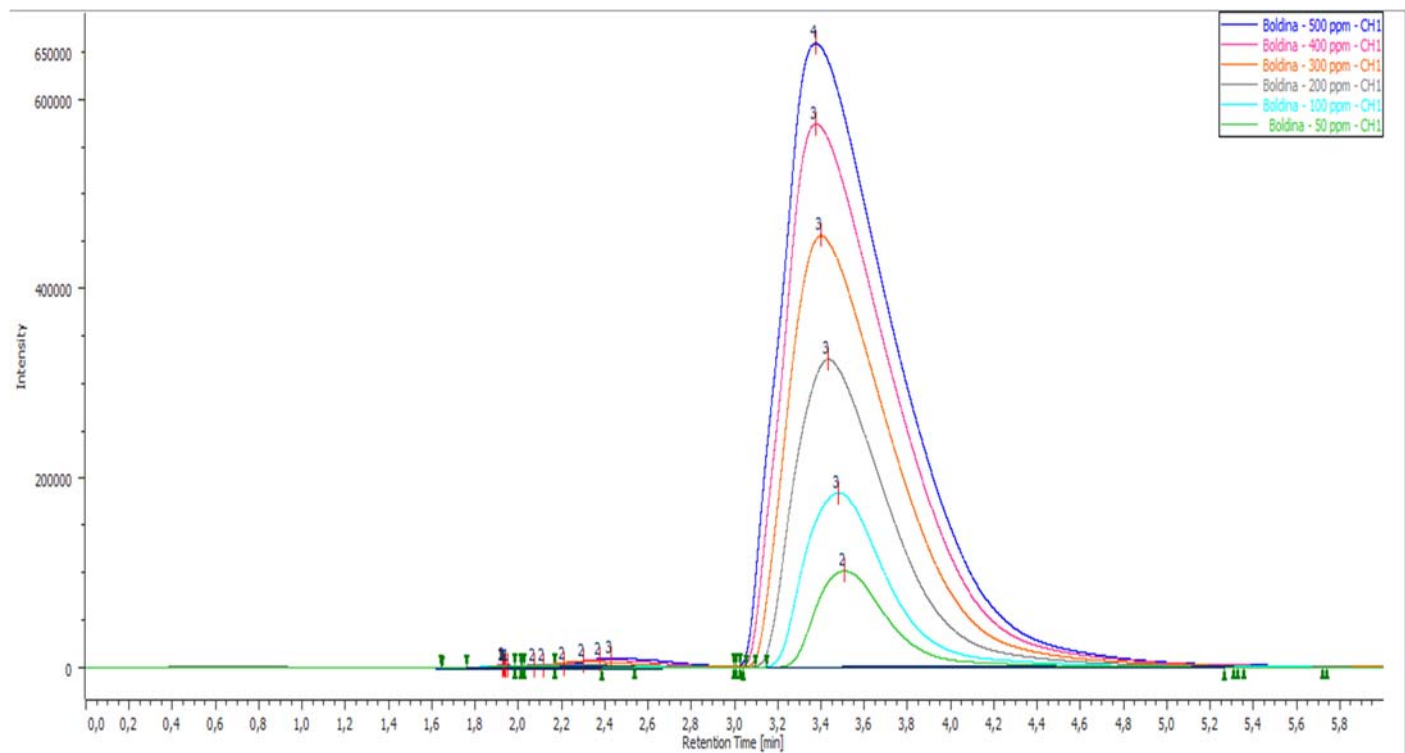
Figura 1: Curva analítica da Boldina (CLAE) , tR: 3,470



Fonte: Autoria própria.

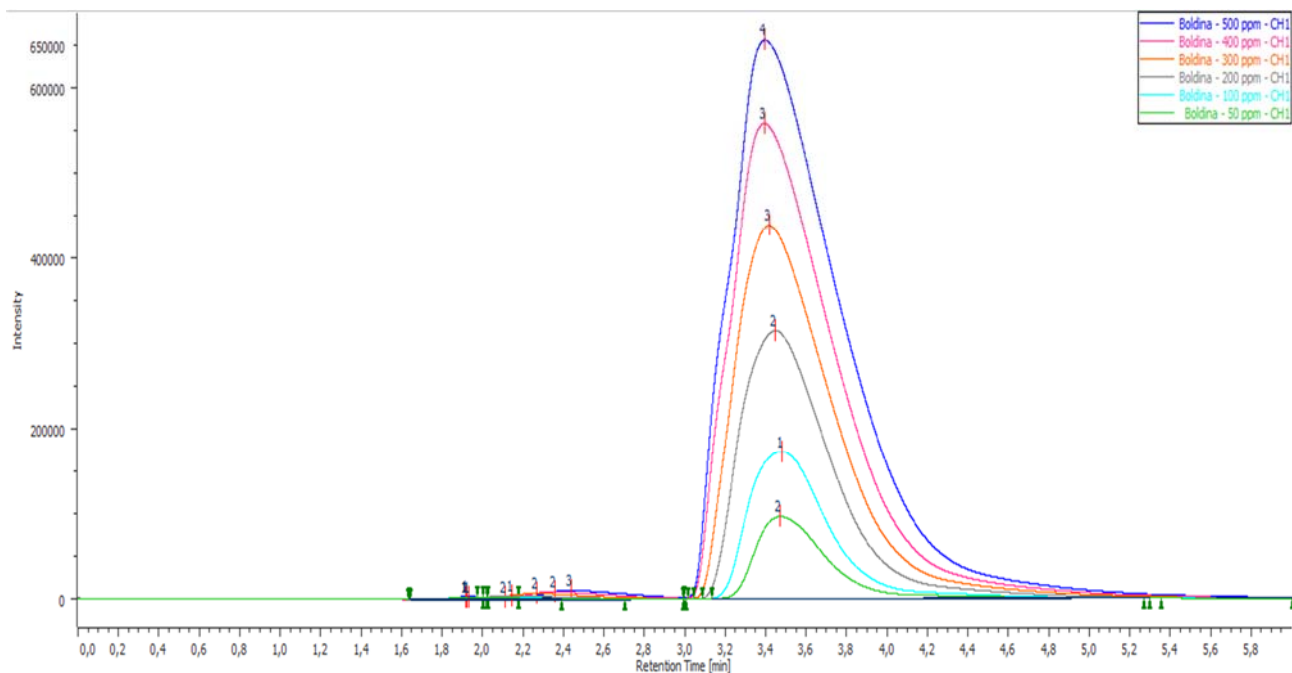
#

Figura 2: Curva analítica da Boldina (CLAE); tR: 3,470



Fonte: Autoria própria.

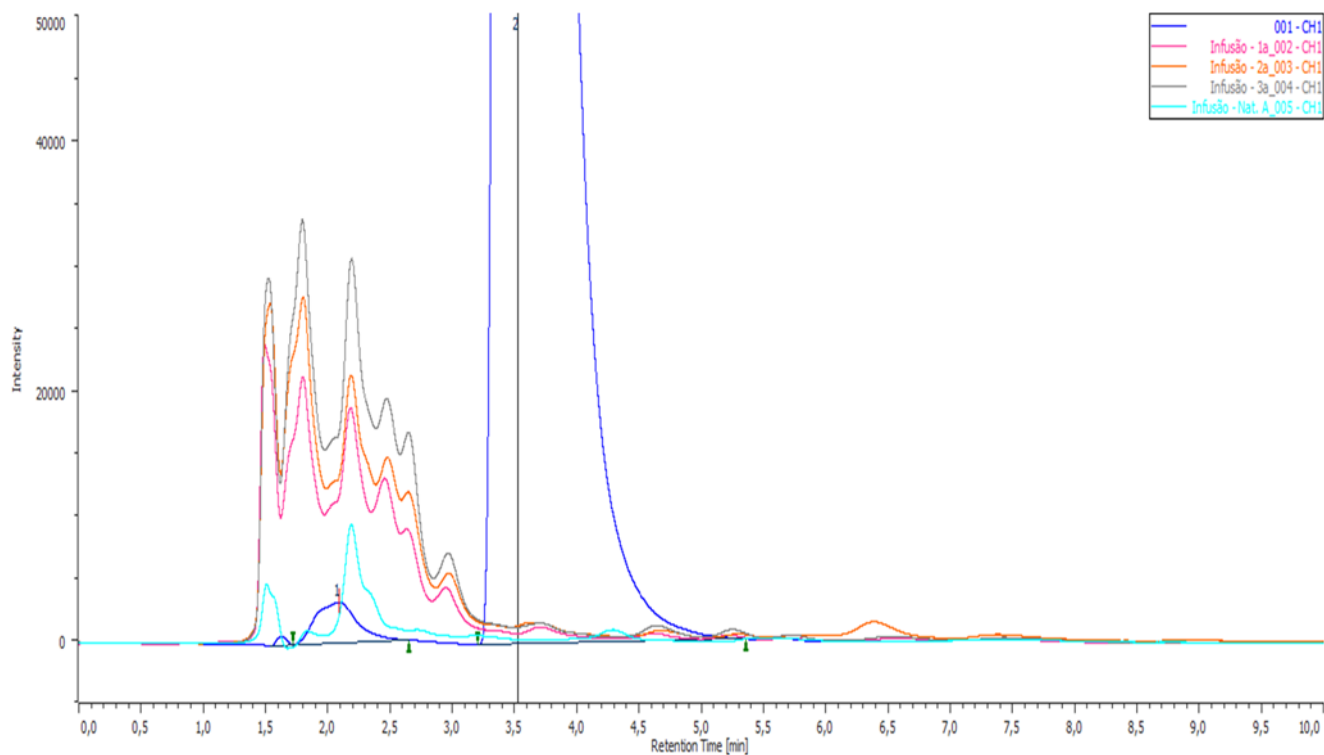
Figura 3: Curva analítica da Boldina (CLAE); tR: 3,470



Fonte: Autoria própria.

APÊNDICE B – CURVA ANALÍTICA DAS AMOSTRAS OBTIDAS POR MÉTODO DE EXTRAÇÃO.

Figura4: Extração de infusão

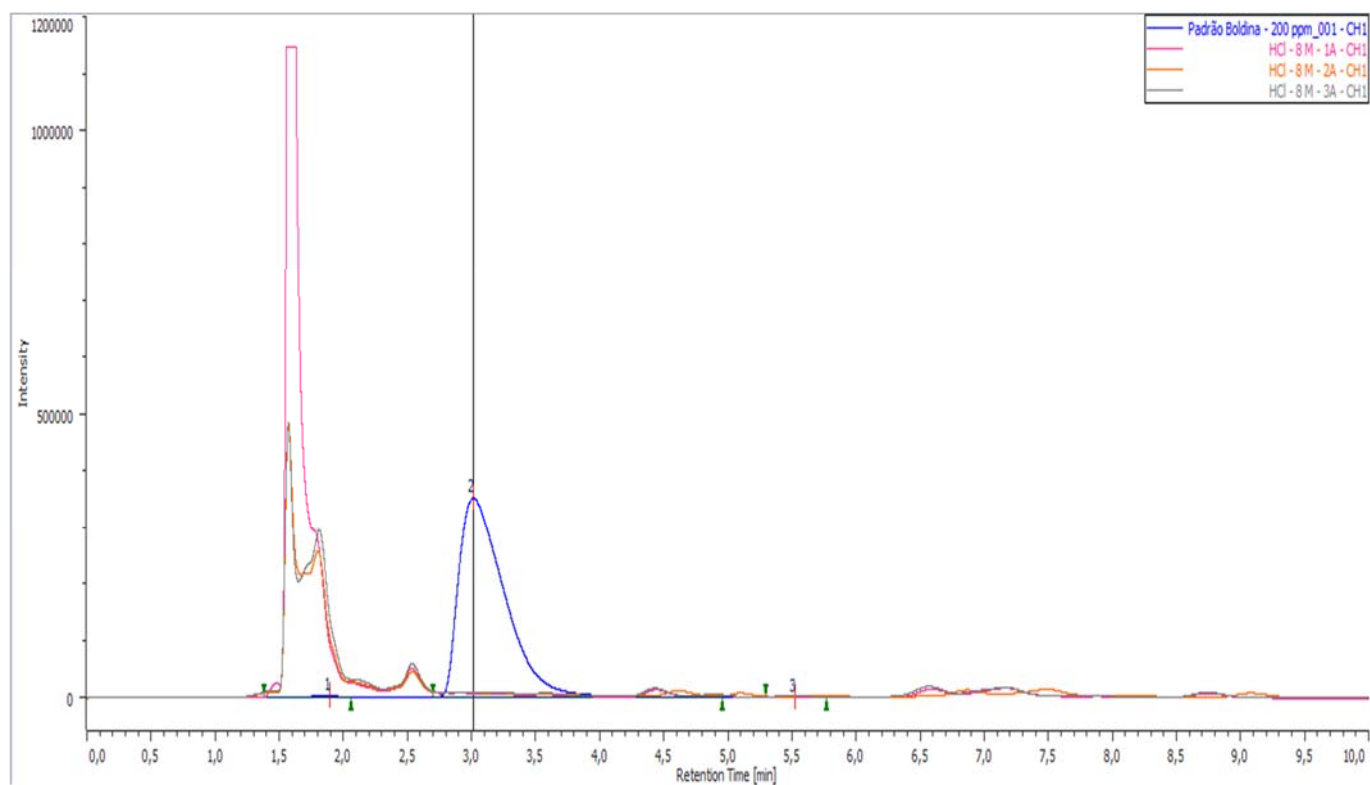


Fonte: Autoria própria.

#

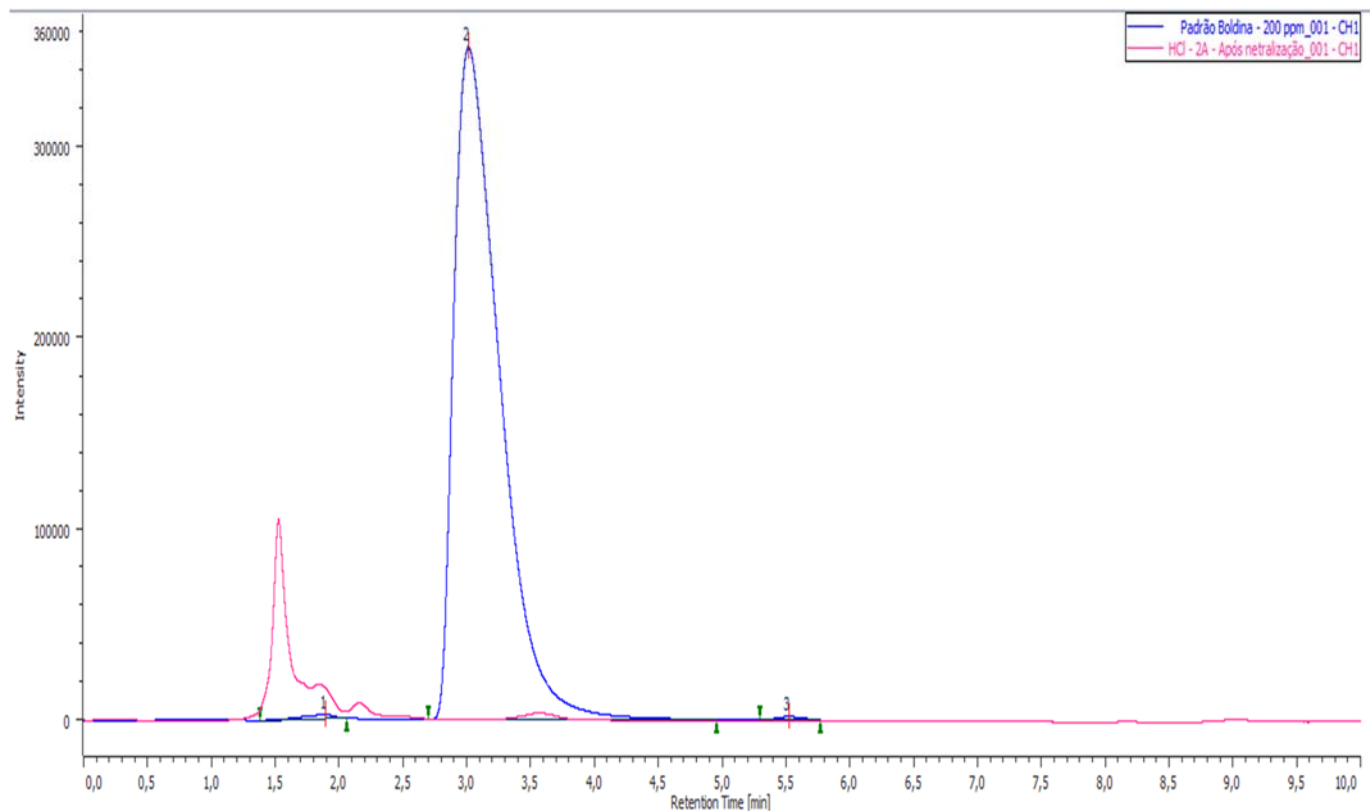
#

Figura 5: Extração maceração 8%



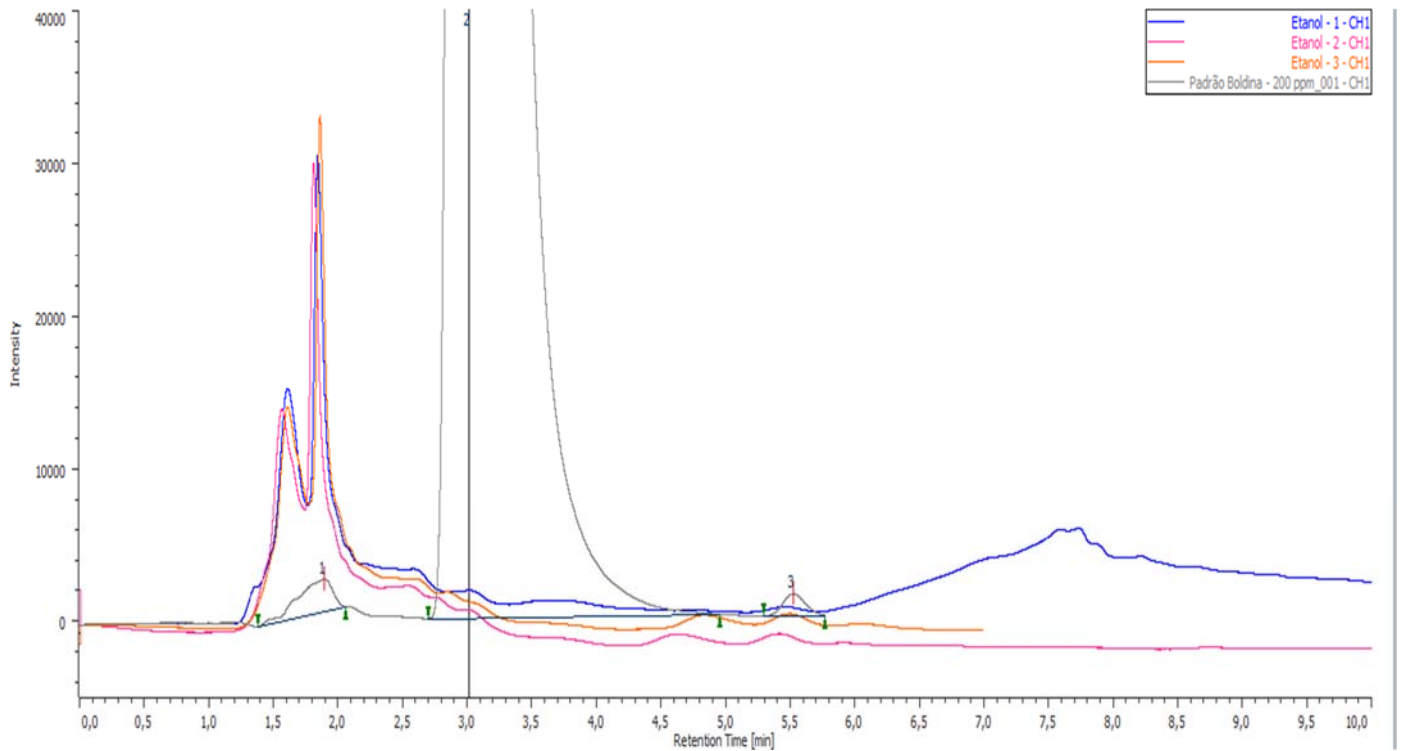
Fonte: Autoria própria

Figura 6: Extração maceração HCl 8% Neutralizado



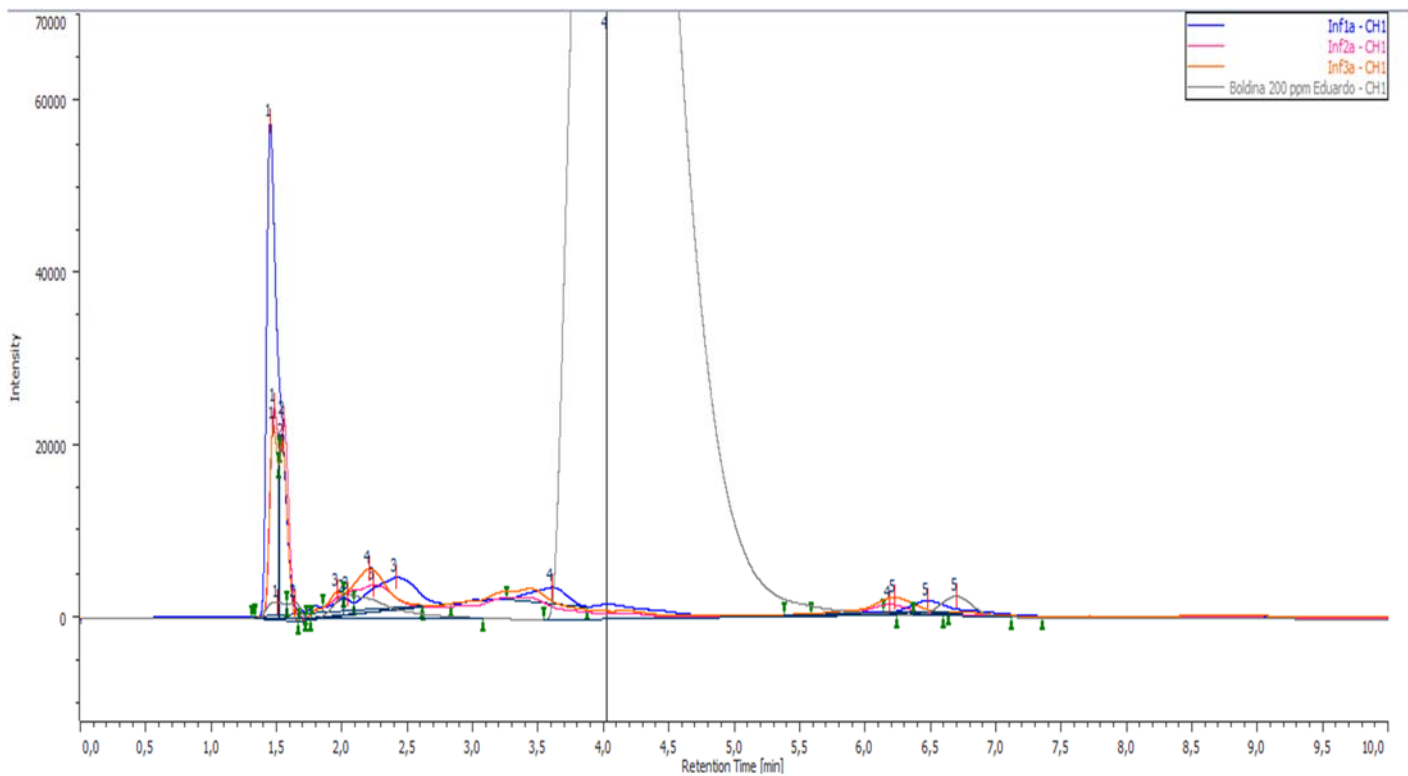
Fonte: Aatoria própria

Figura 7: Extração em Etanol



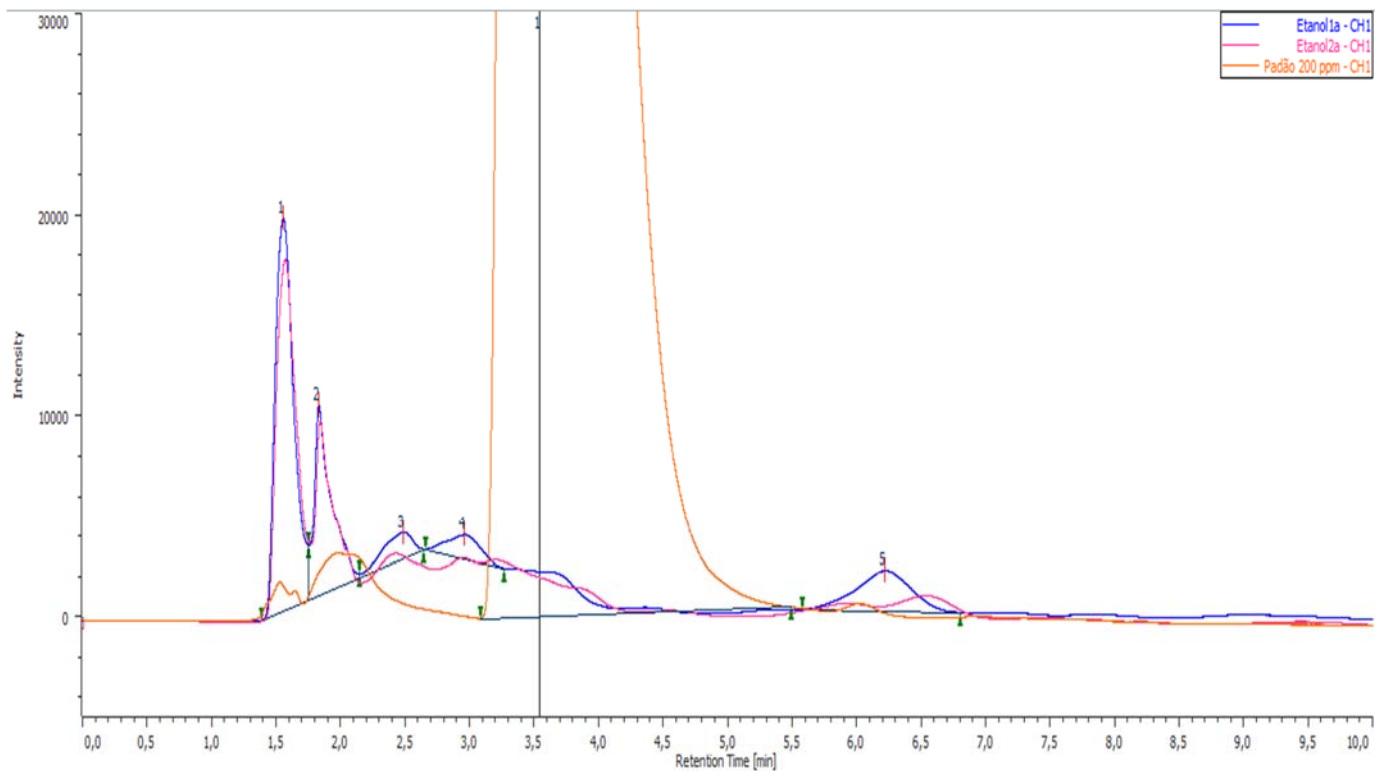
Fonte: Aatoria própria

Figura 8: Extração por infusão



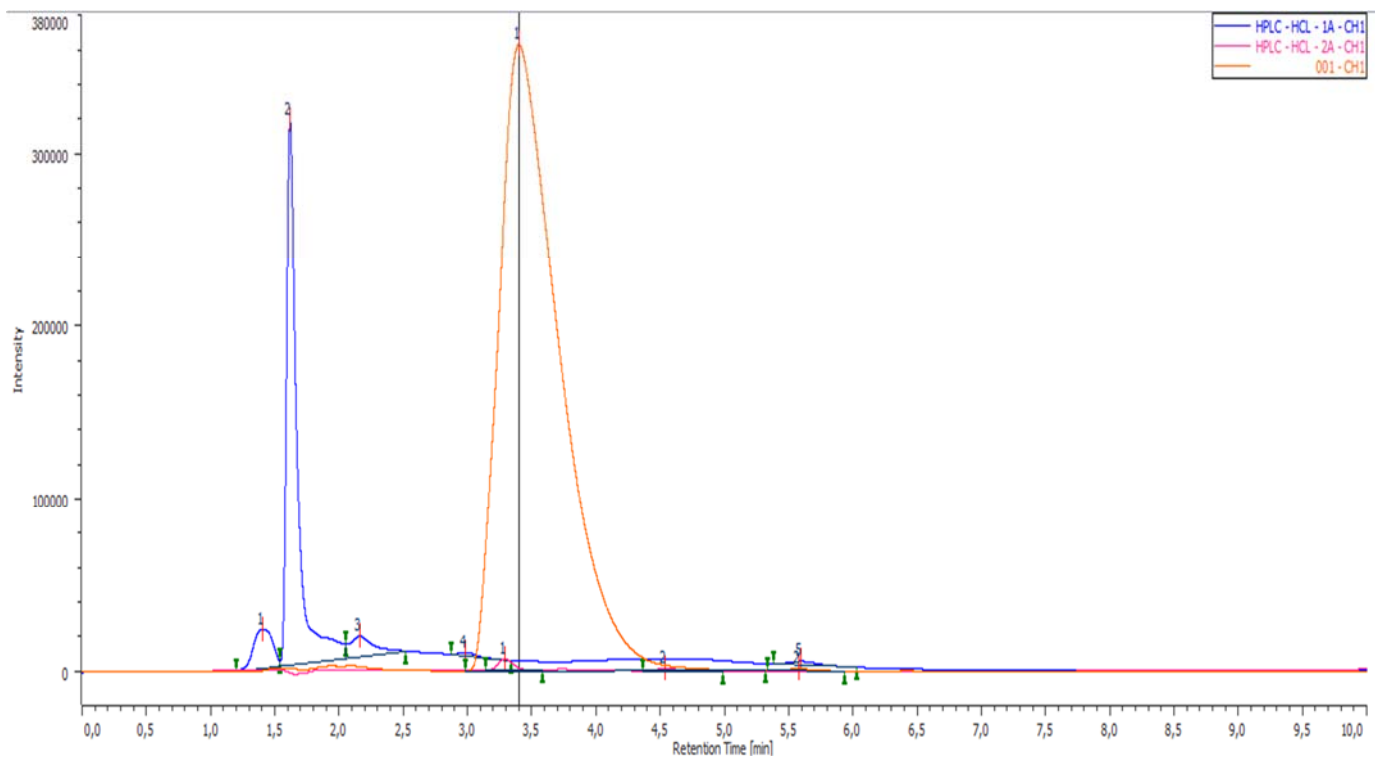
Fonte: Aatoria própria

Figura 9: Extração maceração em Etanol



Fonte: Autoria própria

Figura 10: Extração maceração em HCl 0,1 mol.L⁻¹



Fonte: Autoria própria.