

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

JACKELINE STOSKI

**UTILIZAÇÃO DE MATERIAL A BASE DE RESINA EPÓXI COMO NOVO SORVENTE PARA
O DESENVOLVIMENTO DE BARRAS SORTIVAS E SUA APLICAÇÃO NA PRÉ-
CONCENTRAÇÃO DE TRICLOSAN E METIL-TRICLOSAN EM ÁGUAS E EFLUENTES**

Curitiba

2016

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

JACKELINE STOSKI

**UTILIZAÇÃO DE MATERIAL A BASE DE RESINA EPÓXI COMO NOVO SORVENTE PARA
O DESENVOLVIMENTO DE BARRAS SORTIVAS E SUA APLICAÇÃO NA PRÉ-
CONCENTRAÇÃO DE TRICLOSAN E METIL-TRICLOSAN EM ÁGUAS E EFLUENTES**

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Química, pelo Programa de Pós-graduação em Química, Setor de Ciências Exatas, Universidade Federal do Paraná

Orientador: Prof. Dr. Gilberto Abate (UFPR)

Co-orientador: Dr. Natalicio Ferreira Leite (TECPAR)

Curitiba

2016

S885u Stoski, Jackeline

Utilização de material a base de resina epóxi como novo sorvente para o desenvolvimento de barras sortivas e sua aplicação na pré-concentração de triclosan e metil-triclosan em águas e efluentes./ Jackeline Stoski. – Curitiba, 2016.

75f. : il. [algumas color.] ; 30 cm.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Exatas, Programa de Pós-graduação em Química, 2016

Orientador: Gilberto Abate – Coorientador: Natalicio Ferreira Leite

1. Química ambiental. 2. Química analítica. 3. Resina epóxi. I. Universidade Federal do Paraná. II. Abate, Gilberto. III. Leite, Natalicio Ferreira. IV. Título.

CDD: 546.24

TERMO DE APROVAÇÃO

**UTILIZAÇÃO DE MATERIAL A BASE DE RESINA EPÓXI COMO NOVO
SORVENTE PARA O DESENVOLVIMENTO DE BARRAS SORTIVAS E
SUA APLICAÇÃO NA PRÉ-CONCENTRAÇÃO DE TRICLOSAN E
METIL-TRICLOSAN EM ÁGUAS E EFLUENTES**

por

JACKELINE STOSKI

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre no Programa de Pós-Graduação em Química,
pela Comissão Examinadora composta por:

Orientador:



Prof. Dr. Gilberto Abate
Dep. de Química – UFPR



Prof. Dr. Julio César Rodrigues de Azevedo
Dep. Acadêmico de Química e Biologia – UTFPR



Prof. Dr. Bruno José Gonçalves da Silva
Dep. de Química – UFPR

Curitiba, 26 de outubro de 2016.

Dedico este trabalho à minha família.

AGRADECIMENTOS

A Deus, que me conhece perfeitamente e ama como sou, ilumina os meus caminhos e a cada dia me concede uma nova chance para ser uma pessoa melhor.

Aos meus orientadores Prof. Dr. Gilberto Abate e Dr. Natalicio Ferreira Leite, pela grande acolhida e pelos valiosos ensinamentos durante as conversas e orientações, através das quais avancei no meu conhecimento.

Ao Dr. Éder José dos Santos, que defendeu e viabilizou a liberação para execução deste trabalho, acreditando em meu potencial. Agradeço também pela valorização profissional a mim dedicada.

Aos professores Dr. Marco Tadeu Grassi e Dr. Bruno José Gonçalves da Silva, integrantes da banca de qualificação, e aos professores Dr. Júlio César Rodrigues de Azevedo e Dr. Bruno José Gonçalves da Silva, integrantes da banca da defesa, pela dedicação de seu tempo em atenção a este trabalho, e pelas valiosas contribuições oferecidas espontaneamente, favorecendo o melhoramento geral do conteúdo desta dissertação.

Ao Ronei pela amizade, compreensão e compartilhamento de seus conhecimentos técnicos, e pela ajuda com as análises cromatográficas. Espero poder retribuir a ajuda no seu doutorado.

Ao Valmir, por ter feito minha matrícula e ter me dado grande incentivo no decorrer do curso. Sem você, eu não teria hoje apresentado este trabalho.

Aos colegas de trabalho do TECPAR, pela paciência e compreensão nos meus momentos de dedicação ao mestrado. Ao Everaldo, Bruna e Prof. Maurílio, pela ajuda com as análises de microscopia, à Virlene, pela ajuda com as análises de TGA e FTIR, à Izabel, pela ajuda com as análises em lupa eletrônica, ao Sr. Levi pela boa vontade e capricho na confecção das vidrarias especiais utilizadas nos experimentos.

Aos colegas do Grupo de Química Ambiental da UFPR, por toda a ajuda prestada.

Ao TECPAR, pela liberação para execução deste trabalho e pela disponibilização dos materiais e equipamentos necessários para a execução do projeto de pesquisa, possibilitando o meu crescimento profissional.

Ao Departamento de Química da Universidade Federal do Paraná, e ao Programa de Pós-graduação em química pela possibilidade de realizar esse trabalho.

À FINEP pelo auxílio financeiro.

RESUMO

O triclosan (TCS) é um bactericida de amplo espectro, utilizado largamente em produtos de higiene pessoal em função de sua baixa toxicidade ao contato com a pele, sendo o seu uso mais comum na composição de sabonetes antissépticos e cremes dentais. Após o uso, os produtos contendo este composto são descartados nas vias de efluentes domésticos e industriais, atingindo, na maioria das vezes, os corpos hídricos naturais, onde passam a ser considerados poluentes ambientais. No meio ambiente, o TCS fica suscetível a diversas reações de decomposição, gerando subprodutos de maior toxicidade. O metil-triclosan (MTCS), um de seus metabólitos, apresenta maior estabilidade frente a reações de degradação fotoquímicas e maior hidrofobicidade, características que favorecem o seu acúmulo no meio ambiente.

Diversos estudos relatam a presença de resíduos destes compostos bem como os seus efeitos tóxicos em ambientes aquáticos naturais, o que justifica a necessidade de desenvolvimento de métodos capazes de determinar a sua presença, mesmo quando em concentrações muito baixas. Para a detecção de analitos que ocorrem em níveis de concentração abaixo dos limites de quantificação das técnicas analíticas, são necessárias etapas preliminares de pré-concentração da amostra. Estas técnicas, além de pré-concentrarem os analitos, promovem a sua transferência da matriz original para uma forma mais adequada de introdução nos sistemas analíticos, removendo possíveis interferentes.

A técnica de extração sortiva em barra de agitação, do inglês *Stir Bar Sorptive Extraction* (SBSE), vem ganhando destaque na química analítica pelas variadas aplicações e pelos bons níveis de pré-concentração fornecidos. Essa técnica faz uso de uma barra de agitação magnética revestida com uma substância capaz de sorver seletivamente os analitos da solução, de forma que estes possam ser posteriormente removidos da barra e submetidos à determinação cromatográfica.

O uso de resina comercial a base de epóxi foi proposto neste trabalho como novo sorvente para o desenvolvimento de barras sortivas e aplicado para extração e pré-concentração de TCS e MTCS em amostras de águas e efluentes por SBSE, utilizando-se a técnica de LC-DAD para a quantificação dos analitos. A metodologia desenvolvida foi estudada na faixa de concentração entre 2,5 e 50,0 $\mu\text{g L}^{-1}$, e forneceu valores de recuperação entre 50,3 e 121,6 % dos analitos em amostras fortificadas, considerando a aplicação em seis matrizes ambientais.

ABSTRACT

Triclosan (TCS) is a broad spectrum bactericidal, widely used in personal care products due to its low toxicity to skin contact, and its most common use is in the composition of antiseptic soaps and toothpastes. After use, products containing this compound are discarded in the process of domestic and industrial sewage, reaching most of the time, the natural water bodies, which are now considered environmental pollutants. TCS is susceptible to various decomposition reactions, in the environment, generating by-products of greater toxicity. The methyl-triclosan (MTCS), is one of TCS metabolites, and has greater stability in the photochemical degradation reactions and higher hydrophobicity, characteristics that favor its accumulation in the environment.

Several studies have reported the presence of residues of these compounds and their toxic effects in natural aquatic environments, which justifies the need to develop methods to determine their presence, even at very low concentrations. For the analytes determination in concentration levels below the limits of quantitation of the analytical techniques, preliminary steps are necessary for the preconcentration. These techniques, in addition to provide the analytes preconcentration, promote the transfer of the original matrix to a more appropriate way of introduction in analytical systems, removing possible interferences.

The technique of stir bar sorptive extraction (SBSE) has been highlighted in analytical chemistry for the various applications and the high levels of preconcentration provided. This technique makes use of a magnetic stirrer bar coated with a substance able to sorb selectively the analytes from the solution, and the subsequent removal from the bar for the chromatographic determination.

The use of commercial epoxy resin has been proposed in this work as a new sorbent for the development of sorptive bars and applied for extraction and preconcentration of TCS and MTCS in water and effluent samples by SBSE, using the LC-DAD technique for the analytes quantification. The developed methodology was studied in the concentration range between 2.5 and 50.0 $\mu\text{g L}^{-1}$, and provided recovery values between 50.3 and 121.6 % of the analytes in fortified samples, considering the application in six environmental matrices.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	viii
LISTA DE TABELAS	xi
LISTA DE SIGLAS E ACRÔNIMOS	xii
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DA LITERATURA	3
2.1. Triclosan: aspectos gerais	3
2.2. Efeitos toxicológicos do triclosan	5
2.3. Produtos de degradação do triclosan	6
2.3.1. Metil-triclosan	7
2.3.2. Fenóis clorados.....	7
2.3.3. Formação de dioxinas a partir do triclosan	8
2.4. Ocorrência de triclosan e metil-triclosan no meio ambiente.....	10
2.5. Técnicas analíticas utilizadas para a determinação de triclosan e metil-triclosan.....	11
2.6. Extração sortiva em barra de agitação	12
2.7. Materiais sorventes e aplicações para SBSE.....	16
3. OBJETIVOS	19
3.1. Objetivo geral.....	19
3.2. Objetivos específicos	19
4. MATERIAIS E MÉTODOS	20
4.1. Reagentes e padrões analíticos	20
4.2. Amostras analisadas: coleta, preservação e armazenamento	21
4.3. Equipamentos	23
4.4. Avaliação dos sorventes selecionados	24
4.4.1. Estudos de sorção	24
4.4.2. Estudos de dessorção	25
4.5. Preparo das barras sortivas	26
4.5.1. Barras recobertas com sorvente	26

4.5.2. Barras de resina epóxi	27
4.6. Caracterização da resina epóxi	28
4.7. Extração com as barras sortivas	29
4.8. Otimização das condições de extração	30
4.9. Definição das condições cromatográficas.....	30
4.10. Definição dos parâmetros de mérito	31
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	32
5.1. Avaliação da afinidade dos sorventes pelo triclosan.....	32
5.1.1. Determinação de triclosan na etapa de avaliação dos sorventes	32
5.1.2. Avaliação da eficiência dos sorventes	34
5.2. Dessorção do TCS dos sorventes	37
5.3. Confeção das barras sortivas	38
5.4. Determinação de triclosan e metil-triclosan por LC-DAD	39
5.5. Extrações com barras sortivas de resina epóxi com C18	42
5.6. Dessorção dos analitos das barras sortivas.....	43
5.7. Efeito da resina epóxi na sorção do analito	44
5.8. Características físico-químicas das barras de resina epóxi.....	47
5.9. Avaliação das condições analíticas de extração com barras de epóxi	53
5.10. Avaliação dos parâmetros de mérito do método.....	59
5.11. Determinação de TCS e MTCS em amostras reais.....	65
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS E CONCLUSÕES	68
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	70

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Formação de fenóis clorados a partir triclosan (Adaptado de Canosa <i>et al.</i> , 2005). 2,4-DCP: 2,4-diclorofenol, 2,4,6-TCP: 2,4,6-triclorofenol e 2,3,4-TCP: 2,3,4-triclorofenol.....	8
Figura 2. Produtos de cloração do triclosan e dioxinas relacionadas (modificado de Buth <i>et al.</i> , 2009). DCTs: Derivados clorados do triclosan; hv: radiação ultravioleta	9
Figura 3. Barra sortiva de agitação magnética, onde: a) núcleo magnético, b) revestimento de vidro e c) fase extratora quimicamente ativada (modificado de www.gerstel.com). Dimensões entre 10 e 20 mm de comprimento	13
Figura 4. Mapa hidrográfico da cidade de Curitiba / PR, sendo a) Ponto de coleta da amostra do Rio Barigui e b) ponto de coleta da amostra do Rio Iguaçu. Fonte: www.curitiba.pr.gov.br	22
Figura 5. Reação do fenol com 4-aminoantipirina (Fonte: adaptado de Nassiri <i>et al.</i> , 2014)	25
Figura 6. Diagrama esquemático de um sistema para extração em fase sólida (Fonte: adaptado de Lanças, 2009)	26
Figura 7. Barras de agitação magnéticas confeccionadas: a) barra de PTFE; b) barra de vidro com C18 e c) barra de epóxi com C18	27
Figura 8. Barras de resina epóxi confeccionadas e o molde de PTFE utilizado na confecção das mesmas	28
Figura 9. Fluxograma do procedimento analítico desenvolvido para a extração e determinação de triclosan e metil-triclosan com barras sortivas de epóxi	29
Figura 10. Varredura espectrofotométrica para o composto cromóforo formado a partir do TCS, na concentração de 0,50 mg L ⁻¹ , pela reação com a 4-aminoantipirina	33
Figura 11. Curva analítica obtida para quantificação de TCS pelo método espectrofotométrico. A = absorvância, C _{TCS} = Concentração de TCS (mg L ⁻¹)	34
Figura 12. Espectro de absorção dos analitos TCS (linha azul) e MTCS (linha vermelha), 20,0 mg L ⁻¹ em acetonitrila, em função do comprimento de onda (nm)	40
Figura 13. Cromatogramas sobrepostos para elaboração da curva analítica obtida por diluição direta dos padrões em concentrações entre 0,05 e 2,00 mg L ⁻¹ , onde: a) TCS (tr: 5,3 minutos) e b) MTCS (tr: 9,5 minutos)	41
Figura 14. Curvas analíticas obtidas para TCS e MTCS. As barras correspondem	

à estimativa do desvio padrão de triplicatas. A: Área de pico em 230 nm, $C_{(MTCS)}$: concentração de MTCS e $C_{(TCS)}$: concentração de TCS	41
Figura 15. Recuperação de TCS em função do volume de solução, em soluções com concentração de $50,0 \mu\text{g L}^{-1}$ de TCS e tempo de extração de 60 min, com barras de epóxi com C18, $n = 3$	43
Figura 16. Desempenho de barras de epóxi com e sem sorvente C18 na recuperação de TCS, onde: a) até $10 \mu\text{g}$ de TCS, e b) parte inicial da figura a) com escala ampliada para massas até $0,75 \mu\text{g}$. Experimentos com volume e concentração do analito variáveis entre os grupos comparativos, sendo: $10,0 \mu\text{g}$: 200 mL de solução $50,0 \mu\text{g L}^{-1}$, $0,75 \mu\text{g}$: $15,0 \text{ mL}$ de solução $50,0 \mu\text{g L}^{-1}$, $0,20 \mu\text{g}$: $20,0 \text{ mL}$ de solução $10,0 \mu\text{g L}^{-1}$ e $0,10 \mu\text{g}$: $20,0 \text{ mL}$ de solução $5,0 \mu\text{g L}^{-1}$	45
Figura 17. Comparação visual entre barra de resina epóxi com C18 (acima) e sem C18 (abaixo). Imagem ampliada 20 vezes em lupa eletrônica	46
Figura 18. Superfície da barra de resina epóxi obtida por microscopia eletrônica de varredura (MEV) com detector <i>backscattered</i> , com ampliações de (a) 30, (b) 100, (c) 500 e (d) 1000 vezes	48
Figura 19. Imagens da superfície da barra de resina epóxi obtida por MEV com detector EDS. a) barra sortiva ampliada 1300 vezes; as demais imagens correspondem à caracterização dos elementos: Ba (b), S (c), Al (d), Si (e) e C (f)	49
Figura 20. Análise termogravimétrica de 50 a $850 \text{ }^\circ\text{C}$ para os dois componentes do Durepóxi, sendo a) resina epóxi e b) agente de cura (endurecedor)	50
Figura 21. Estrutura molecular de resina epóxi resultante da polimerização do bisfenol-a com a epicloridrina – diglicidil eter de bisfenol-a (Fonte: adaptado de Jin <i>et al.</i> , 2015)	51
Figura 22. Espectro de infravermelho obtido para a resina de epóxi curada	52
Figura 23. Influência do pH na eficiência de extração em soluções contendo $25,0$ $\mu\text{g L}^{-1}$ dos analitos, em $20,0 \text{ mL}$ de solução e tempo de extração de 60 min, $n = 3$	54
Figura 24. Avaliação do volume de solução na extração de TCS e MTCS em soluções contendo $0,5 \mu\text{g}$ dos analitos e tempo de extração de 60 min, $n = 3$	55
Figura 25. Avaliação da influência do tempo de extração na recuperação de TCS e MTCS em soluções contendo $25,0 \mu\text{g L}^{-1}$ dos analitos, em $20,0 \text{ mL}$ de solução, $n = 4$	56
Figura 26. Influência da força iônica na recuperação de TCS e MTCS em soluções contendo $25,0 \mu\text{g L}^{-1}$ dos analitos, em $20,0 \text{ mL}$ de solução e tempo de extração de 60 min, $n = 4$	57

Figura 27. a) Recipientes térmicos acomodados sobre agitadores magnéticos; e b) banho termostático para ajuste da temperatura dos experimentos	58
Figura 28. Influência da temperatura das amostras na extração de $25,0 \mu\text{g L}^{-1}$ de TCS e MTCS (20,0 mL). Tempo de extração de 60 min, $n=3$	59
Figura 29. Cromatogramas sobrepostos da curva analítica para TCS e MTCS obtidos por SBSE no intervalo de $2,50$ a $50,0 \mu\text{g L}^{-1}$	60
Figura 30. Curvas analíticas obtidas por extração com barras sortivas de epóxi para TCS e MTCS no intervalo de $2,50$ a $50,0 \mu\text{g L}^{-1}$. As barras correspondem às estimativas de desvios padrão de triplicatas	61
Figura 31. Trombeta de Horwitz (Fonte: Harris, 2012)	64
Figura 32. Recuperações percentuais de TCS e MTCS nas matrizes aquosas fortificadas com $25,0 \mu\text{g L}^{-1}$ dos analitos, $n = 3$	66

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Estrutura molecular e principais características físico-químicas do triclosan	4
Tabela 2. Estruturas e principais características físico-químicas do metil–triclosan	7
Tabela 3. Ocorrência de triclosan e de metil–triclosan em matrizes biológicas e ambientais	10
Tabela 4. Exemplos de aplicações da SBSE	14
Tabela 5. Parâmetros avaliados para extração por SBSE	30
Tabela 6. Absorbâncias obtidas para a curva analítica elaborada para a quantificação de TCS pelo método espectrofotométrico	33
Tabela 7. Eficiência de remoção de TCS (0,50 mg L ⁻¹) pelos sorventes avaliados (%)	35
Tabela 8. Comparação entre métodos analíticos apresentados na literatura.....	62
Tabela 9. Parâmetros de mérito para a determinação de TCS e MTCS em água deionizada com barras sortivas de resina epóxi.....	63

LISTA DE SIGLAS E ACRÔNIMOS

ACN: Acetonitrila

ANVISA: Agência Nacional de Vigilância Sanitária

CONAMA: Conselho Nacional do Meio Ambiente

DAD: Detector de arranjo de diodos

DL₅₀: Dose letal para 50 % da população

EPA: Environmental Protection Agency

FTIR: Infravermelho por transformada de Fourier

GC: Cromatografia a gás

GC-MS: Cromatografia a gás acoplada à espectrometria de massas

FTIR: Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier

ICP OES: Espectrometria de emissão óptica por plasma indutivamente acoplado

INMETRO: Instituto Nacional de Metrologia

K_a: Constante de acidez

K_{ow}: Coeficiente de partição octanol-água

LC: Cromatografia a líquido

LC-DAD: Cromatografia a líquido acoplada a detector de arranjo de diodos

LOD: Limite de detecção

LOQ: Limite de quantificação

MEV / EDS: Microscopia eletrônica de varredura com detector de espectroscopia de energia dispersiva

MTCS: Metil triclosan

PDMS: Polidimetilsiloxano

pK_a: - log da constante de dissociação

r²: Coeficiente de determinação

RSD: Desvio padrão relativo

s: Estimativa do desvio padrão

SBSE: Extração sortiva em barra de agitação

TCS: Triclosan

TGA: Termogravimetria

1. INTRODUÇÃO

A determinação de poluentes orgânicos no meio ambiente, inclusive em amostras de águas, necessita de uma etapa preliminar de pré-concentração destes contaminantes em função das baixas concentrações em que ocorrem. Além disso, geralmente é necessária a extração destes compostos de suas matrizes originais para solventes mais adequados, considerando-se a sua determinação por métodos cromatográficos. Desta forma, a preparação de amostras é considerada uma importante etapa neste processo, e vem sendo constantemente aperfeiçoada para a obtenção de melhores desempenhos analíticos (Borges, *et al.*, 2015).

Mais recentemente, levando-se em conta a filosofia de preservação ambiental e química verde, as técnicas de extração que envolvem um grande consumo de solventes ou insumos tóxicos, como a extração líquido-líquido (LLE), vem perdendo seu espaço e sendo substituídas por outras novas técnicas menos poluentes e miniaturizadas, como a extração em fase sólida (SPE) e a microextração em fase sólida (SPME) (Prieto, 2010).

A técnica de extração sortiva em barra de agitação (SBSE - do inglês *Stir Bar Sortive Extraction*), desenvolvida em 1999 por Baltussen e colaboradores, é uma técnicas de microextração que vem ganhando destaque em função do baixo consumo de solventes orgânicos, dos altos níveis de recuperação fornecidos com adequada reprodutibilidade, facilidade de uso e aplicação para uma grande variedade de amostras e classe de compostos orgânicos (Borges *et al.*, 2015). Nesta técnica, uma barra de agitação recoberta com uma substância sorvente é imersa em uma amostra líquida e, após um período de agitação, os compostos de interesse presentes na solução migram para a fase extratora da barra sortiva, de onde podem ser recuperados posteriormente e submetidos à determinação.

Desde o desenvolvimento da SBSE até poucos anos atrás, a única fase sorvente disponível comercialmente em barras sortivas era o polidimetilsiloxano (PDMS), o que limitou o desenvolvimento da técnica para algumas classes de compostos (Prieto *et al.*, 2010). Este fato tem motivado diversos estudos visando o desenvolvimento de novas fases sorventes, ou ainda a aplicação de fases sorventes de uso comum em laboratórios nas barras sortivas, avaliando-se o seu desempenho em tais situações.

Neste trabalho, foi avaliado o uso da resina epoxi comercial Durepoxi® como nova fase sorvente para o desenvolvimento de barras sortivas, visto que esta resina possui diversos grupos funcionais em sua estrutura capazes de exercer efeito de sorção de diversas classes de compostos orgânicos. O desempenho das barras foi estudado em diversas condições de tempo de agitação, pH, temperatura, força iônica e volume da amostra, a fim de se determinar as melhores condições de extração.

A aplicação analítica das barras sortivas de epóxi foi voltada para a extração dos compostos orgânicos triclosan (TCS) e metil-triclosan (MTCS), em matrizes de águas e efluentes, utilizando-se a técnica de cromatografia a líquido com detector de arranjo de diodos (LC-DAD) para a determinação dos analitos. Foram observadas características promissoras para as barras sortivas, como o baixo custo, preparação simples, adequados parâmetros de mérito e ausência de efeito de memória entre extrações consecutivas, além de apresentarem elevada resistência química e mecânica, o que permitiu a utilização de cada barra por mais de 40 vezes durante o desenvolvimento deste trabalho, sem apresentar qualquer piora no seu desempenho.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. Triclosan: aspectos gerais

Nas últimas décadas vem crescendo acentuadamente a produção e o consumo de produtos destinados à manutenção da higiene e dos cuidados pessoais, com a finalidade de melhora da qualidade de vida das pessoas. Estas práticas de consumo, associadas ao avanço tecnológico em diversos setores, resultam também no aumento na expectativa de vida graças à ampliação da prevenção de doenças. Entre alguns exemplos destes produtos comerciais estão os medicamentos e os produtos de higiene pessoal, como xampus, condicionadores, sabonetes, protetores solar, cremes dentais, hidratantes, maquiagens, entre outros.

Muitos destes produtos possuem compostos orgânicos que são biologicamente ativos, concebidos para atuar em processos específicos em seres humanos e animais, e, após o seu uso, são descartados diretamente na rede de efluente sanitário, podendo atingir os corpos d'água naturais. Por este motivo, surge também a preocupação sobre o acúmulo destes poluentes orgânicos no meio ambiente e seus possíveis efeitos nos ecossistemas aquáticos e à saúde humana (Buth *et al.*, 2010).

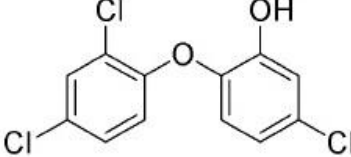
Dentre os princípios ativos utilizados atualmente, o TCS tem ganhado destaque em função de evidências de possíveis efeitos adversos à saúde humana e ao ambiente. O TCS (5-cloro-2-(2,4-diclorofenoxi) fenol) é um poderoso agente antibacteriano de uso tópico, muito utilizado por apresentar boa tolerância para uso na pele e cavidade bucal, quando em baixas concentrações. Este composto é um agente antisséptico de amplo espectro, efetivo para a inibição do crescimento de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas e de fungos (Andrade *et al.*, 2011). Por este motivo, pode ser utilizado como antisséptico em produtos como sabonetes líquidos para mãos, cremes dentais, talcos antissépticos, detergentes, desodorantes, produtos para higiene infantil, entre outros. Pode também ser utilizado como aditivo e conservante em diversos produtos como adesivos, tintas, tecidos e até mesmo em plásticos para produção de brinquedos e recipientes para o armazenamento de alimentos (Kawaguchi *et al.*, 2008).

O TCS é comercialmente conhecido como Irgasan® DP 300R (BASF SE, Alemanha), e vem sendo largamente utilizado no Brasil, sendo o seu uso em produtos de higiene pessoal regulamentado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). De acordo com a Resolução da Diretoria Colegiada – RDC 29, de 01/06/2012, a concentração máxima permitida em produtos de higiene e cuidados pessoais atinge 0,3 % em massa, mas pode chegar a 1 % em sabonetes para profilaxia cirúrgica. Essas concentrações estão de acordo com a Diretiva da União Europeia

76/768/CEE, de 1976, e suas emendas subsequentes. Nos Estados Unidos, há regulamentação pela *Environmental Protection Agency* (EPA) para o uso como pesticida e pela *Food and Drug Administration* (FDA) em produtos para uso pessoal. Entretanto, o uso de TCS e de outros 18 antissépticos foi restrito pela FDA em setembro de 2016, da composição de produtos de higiene pessoal “enxaguados com água”, visto que os fabricantes não puderam demonstrar que estes compostos seriam seguros para uso diário em longo prazo, nem que os procedimentos de limpeza realizados com estes produtos são mais eficazes do que a lavagem com água e sabão, na prevenção de doenças e na propagação de certas infecções (FDA, 2016).

A Tabela 1 mostra a estrutura molecular deste composto, bem como suas principais características físico-químicas.

Tabela 1. Estrutura molecular e principais características físico-químicas do triclosan

Estrutura molecular	
Fórmula	$C_{12}H_7Cl_3O_2$
Nomenclatura oficial	5-cloro-2-(2,4-diclorofenoxi)fenol
Número CAS	3380-34-5
Coeficiente de partição octanol/água ($\log K_{ow}$)	4,8
pK_a	7,9
Solubilidade em água	10 mg L ⁻¹ a 20°C
Massa molar	289,54 g mol ⁻¹
Pressão de vapor	4 x 10 ⁻⁴ Pa a 20°C

Fonte: NICNAS, 2009

A incorporação do TCS nesta variedade de produtos resulta no aporte do mesmo nos sistemas de esgoto doméstico e industrial. De acordo com Anger *et al.* (2013), mais de 96 % do TCS presente nos produtos de higiene pessoal são despejados diretamente nestas vias após o uso. Por este motivo, é esperada sua ocorrência, juntamente com a de seus metabólitos, em estações de tratamento de efluentes (ETEs) em todo o mundo (Stuart *et al.*, 2011; Boxall *et al.*, 2012; Katz *et al.* 2013). Como agravante, segundo o IBGE, constatou-se que em 2010, 44,8 % dos municípios brasileiros não dispunham de redes de esgoto sanitário, de forma que os efluentes domésticos eram lançados diretamente nos corpos d’água ou em fossas sépticas, atingindo os ambientes aquáticos naturais, situação que deve persistir atualmente.

Além disso, parte dos efluentes conduzidos para as ETEs passa por um tratamento ineficiente ou, ocasionalmente, é descartada sem receber os tratamentos devidos. Os processos convencionais de tratamento de efluentes, envolvendo processos físico-químicos e biológicos são ineficazes na remoção de muitos contaminantes emergentes, inclusive TCS (Boxall *et al.*, 2012) permitindo que uma parte significativa destes poluentes permaneça no efluente tratado. Adicionalmente, estes processos de tratamento possuem o inconveniente de gerar grandes volumes de lodos contaminados por poluentes não degradados (Tiburtius e Scheffer, 2014).

Contaminantes depositados sobre solos, pavimentos e em depósitos de lixo/resíduos também ficam susceptíveis a mecanismos de transportes pelas águas das chuvas, contribuindo para a convergência destes poluentes para os corpos d'água (Baird e Cann, 2011). Considerando ainda o despejo de efluentes sanitários em fossas sépticas, há inclusive a possibilidade da contaminação dos lençóis freáticos por estes contaminantes. Estes mecanismos de transporte contribuem para o aporte de diversos poluentes aos corpos d'água, fato que agrava a dificuldade de preservação dos recursos hídricos, em especial dos mananciais destinados à captação para tratamento e distribuição nas redes públicas de abastecimento.

No Brasil, muitos poluentes decorrentes de atividades antropogênicas não estão contemplados em programas de monitoramento ambiental e não possuem limites máximos de concentrações estabelecidos para águas e lançamento de efluentes. A Portaria do Ministério da Saúde – MS/2914/2011 define a qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. A Resolução do Conselho Nacional do Meio Ambiente – CONAMA 357/2005 classifica os corpos d'água superficiais e a Resolução CONAMA 430/2011 define padrões para lançamento de efluentes. Nenhuma destas contempla o composto TCS e nem seus metabólitos e subprodutos.

2.2. Efeitos toxicológicos do triclosan

Há uma preocupação crescente em relação à permanência de TCS no ambiente devido às evidências de efeitos adversos aos organismos aquáticos, visto que o TCS possui ação específica para eliminação de microrganismos, similar a outros antibióticos (Stewart *et al.*, 1999), fato este que pode inclusive favorecer o surgimento de bactérias modificadas geneticamente para resistirem à ação de antibióticos.

Este composto é reportado na literatura como altamente tóxico em ambientes naturais. Estudos do efeito do TCS têm demonstrado alta toxicidade para algas verdes, causando a inibição de seu crescimento em baixas concentrações de TCS, com dose letal de $1,5 \mu\text{g L}^{-1}$ e, para peixes, com efeitos notáveis na sua reprodução e

desenvolvimento, como o atraso e a diminuição da eclosão de ovos e redução no desempenho da natação, e dose letal de $350 \mu\text{g L}^{-1}$ (Behera *et al.*, 2010; Garcia, 2011; Hontela e Habibi, 2013).

Devido à alta hidrofobicidade do TCS, com $\log K_{ow}$ 4,8 (Tabela 1), a sua acumulação é possível em tecidos gordurosos de animais, tendo sido detectado na bile de peixes, e também em sangue de golfinhos, que são predadores superiores da cadeia alimentar (Fair *et al.*, 2009).

Seu efeito tóxico foi observado em investigações com camundongos expostos a $12,5 \text{ mg kg}^{-1}$ de TCS, onde os animais demonstraram uma redução de até 25 % nas suas funções cardíacas e, somente após uma hora de exposição, algumas cobaias perderam até 18 % da força muscular (Cherednichenko *et al.* 2012). Apesar de não estar determinado ainda qual o grau de exposição necessário para causar algum efeito negativo nos seres humanos, os autores deste estudo admitiram a possibilidade de risco de efeitos significativos em pacientes com insuficiência cardíaca, visto a intensidade de uso do composto.

A presença do TCS tem sido detectada também em fluidos biológicos de humanos, como urina (Kawagushi, 2008; Pirard *et al.*, 2012), onde o composto foi detectado em 74 % das amostras avaliadas a um nível de concentração médio de $2,70 \mu\text{g L}^{-1}$, além de plasma e de leite materno (Tiburtius e Scheffer, 2014; Haggard *et al.*, 2016). Isso ocorre em decorrência do uso de produtos contendo este bactericida, sendo que o mesmo é classificado como desregulador endócrino, com associação entre exposição ao TCS e alterações dos níveis dos hormônios da tireóide (Canosa *et al.*, 2008, Xue *et al.*, 2015 e Han *et al.*, 2016).

Outra grande preocupação sobre os efeitos deletérios do TCS, tanto para os organismos aquáticos quanto para a saúde humana, é a tendência de transformações deste composto no meio ambiente, levando a formação de produtos de maior toxicidade.

2.3. Produtos de degradação do triclosan

Após seu lançamento no ambiente, o TCS fica suscetível a diversas reações como halogenação, alquilação, oxidação por fotodegradação e degradação microbiana, de acordo com as condições do meio (Canosa *et al.*, 2008; Buth *et al.*, 2009), dando origem a subprodutos e metabólitos de maior toxicidade. Dentre os principais produtos de degradação pode-se citar o MTCS, as dioxinas, os fenóis clorados e as bifenilas policloradas, que são mais lipofílicos e persistentes no meio ambiente (Lumbreras *et al.*, 2014), culminando na sua acumulação em sedimentos e organismos aquáticos.

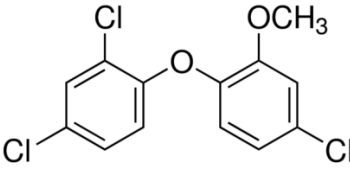
Alguns dos principais subprodutos são descritos a seguir.

2.3.1. Metil-triclosan

O MTCS é um metabólito formado pela metilação biológica do TCS (Fair *et al.*, 2009 e Wenjuan *et al.*, 2013), que apresenta maior hidrofobicidade do que o TCS, com $\log K_{ow}$ 5,1. Além disso, este composto apresenta maior estabilidade frente a reações de degradação fotoquímica, o que lhe confere maior estabilidade no ambiente e bioacumulação (Pintado-Herrera *et al.*, 2014).

A Tabela 2 mostra a estrutura molecular do MTCS, bem como suas principais características físico-químicas.

Tabela 2. Estrutura e principais características físico-químicas do metil-triclosan

Estrutura molecular	
Fórmula	$C_{13}H_9Cl_3O_2$
Nomenclatura oficial	2,4,4-tricloro-2-metoxidifenil éter
Número CAS	4640-01-1
Coefficiente de partição octanol/água ($\log K_{ow}$)	5,1
Massa molar	$303,57 \text{ g mol}^{-1}$

Fontes: Wenjuan *et al.*, 2013 e sigmaaldrich.com

De acordo com Wenjuan *et al.* (2013), no corpo humano, o MTCS tem afinidade com a albumina sérica, levando à formação de um complexo que altera a função desta proteína, causando modificações endócrinas. Em função da sua maior hidrofobicidade, o MTCS tem sido encontrado inclusive em sedimentos aquáticos (Canosa *et al.*, 2008).

Além do MTCS, a decomposição do TCS no ambiente pode levar a formação de outros produtos de degradação de elevada toxicidade.

2.3.2. Fenóis clorados

Estudos evidenciam a formação de diversos compostos mediante a oxidação de TCS por hipoclorito ou cloro livre, que são oxidantes muito utilizados na desinfecção de água nas estações de tratamento de água (ETAs), o que pode contribuir para o aporte destes contaminantes inclusive na água tratada para consumo humano (Canosa *et al.*,

2008; Garcia, 2011).

Por se tratar de um composto fenólico, o TCS pode dar origem a diversos fenóis clorados na presença de cloro livre (Canosa *et al.*, 2005), sendo que a Agência de Proteção Ambiental Americana (US EPA) classifica 11 fenóis clorados como poluentes orgânicos persistentes em função de seus potenciais toxicológicos e ocorrências no ambiente. Dois deles, o 2,4,6-triclorofenol e o pentaclorofenol, são citados como modificadores endócrinos, com evidências de indução ao câncer de fígado, linfomas, leucemia e hemangiosarcoma em roedores (Garcia, 2011).

Uma proposta de rotas de degradação do TCS na presença de cloro é apresentada na Figura 1.

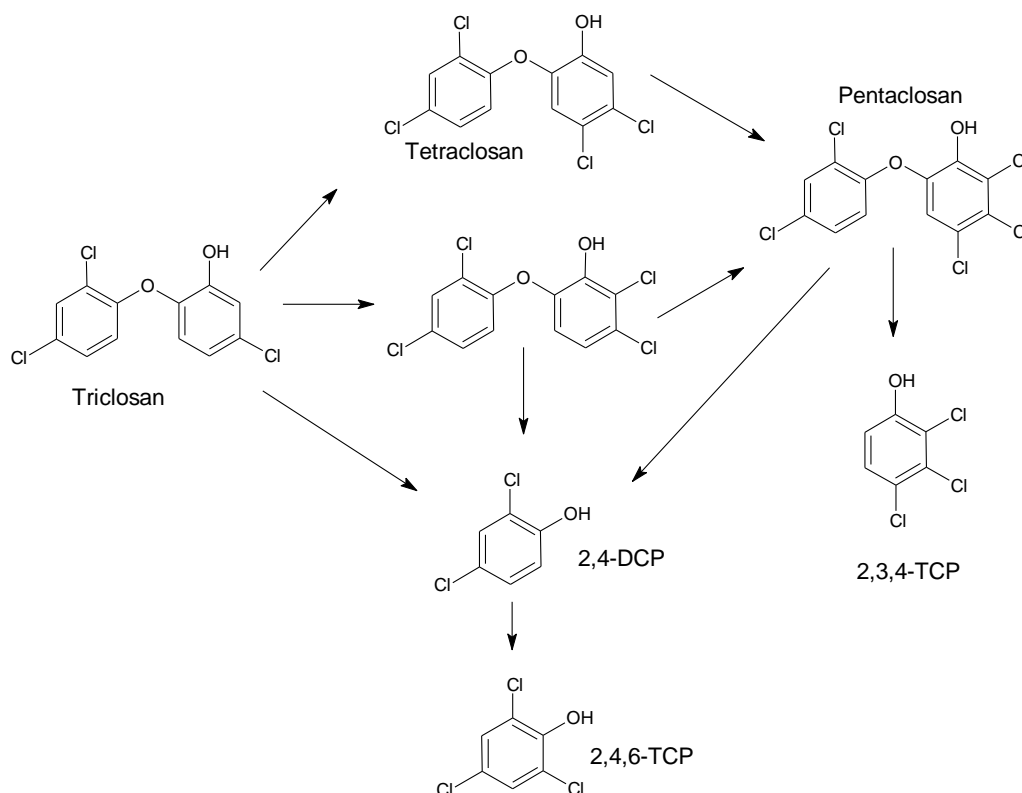


Figura 1. Formação de fenóis clorados a partir do triclosan (Adaptado de Canosa *et al.*, 2005). 2,4-DCP: 2,4-diclorofenol, 2,4,6-TCP: 2,4,6-triclorofenol e 2,3,4-TCP: 2,3,4-triclorofenol

Segundo Canosa *et al.* (2005), a formação de 2,4-diclorofenol e 2,4,6-triclorofenol a partir do TCS foi confirmada em experimentos na presença de cloro.

2.3.3. Formação de dioxinas a partir do triclosan

As dioxinas são um grupo de compostos poluentes de elevada toxicidade, persistentes no meio ambiente. Possuem tempo de meia vida contados em décadas,

tanto no ambiente como em tecidos orgânicos e, por seu caráter lipofílico, são bioacumuladas na cadeia alimentar, principalmente nos tecidos gordurosos dos animais. As dioxinas encontradas no ambiente não são provenientes de produtos comerciais e nem são produzidas deliberadamente para finalidades que não a investigação científica, porém, surgem como subprodutos de reações não controladas, a partir de precursores disponíveis no ambiente (Baird e Cann, 2011).

De acordo com Buth *et al.* (2009), o TCS presente em efluentes e corpos d'água também está sujeito a reagir com cloro residual gerando os seguintes derivados clorados: 4,5-dicloro-2-(2,4-diclorofenoxi)fenol (4-Cl-TCS), 5,6-dicloro-2-(2,4-diclorofenoxi)fenol (6-Cl-TCS) e 4,5,6-tricloro-2-(2,4-diclorofenoxi)fenol (4,6-Cl-TCS). Estes derivados clorados, quando expostos à radiação ultravioleta do sol, são degradados fotoquimicamente, propiciando a formação das dioxinas 2,3,7-triclorodibenzo-p-dioxina (2,3,7-TCDD), 1,2,8-triclorodibenzo-p-dioxina (1,2,8-TCDD), e 1,2,3,8-tetraclorodibenzo-p-dioxina (1,2,3,8-TeCDD), respectivamente. Pelo mesmo tipo de reação de substituição fotoquímica intramolecular, o próprio TCS também gera a 2,8-diclorodibenzo-p-dioxina.

A Figura 2 mostra algumas das prováveis reações do TCS em ambientes aquáticos, que levam à formação de dioxinas.

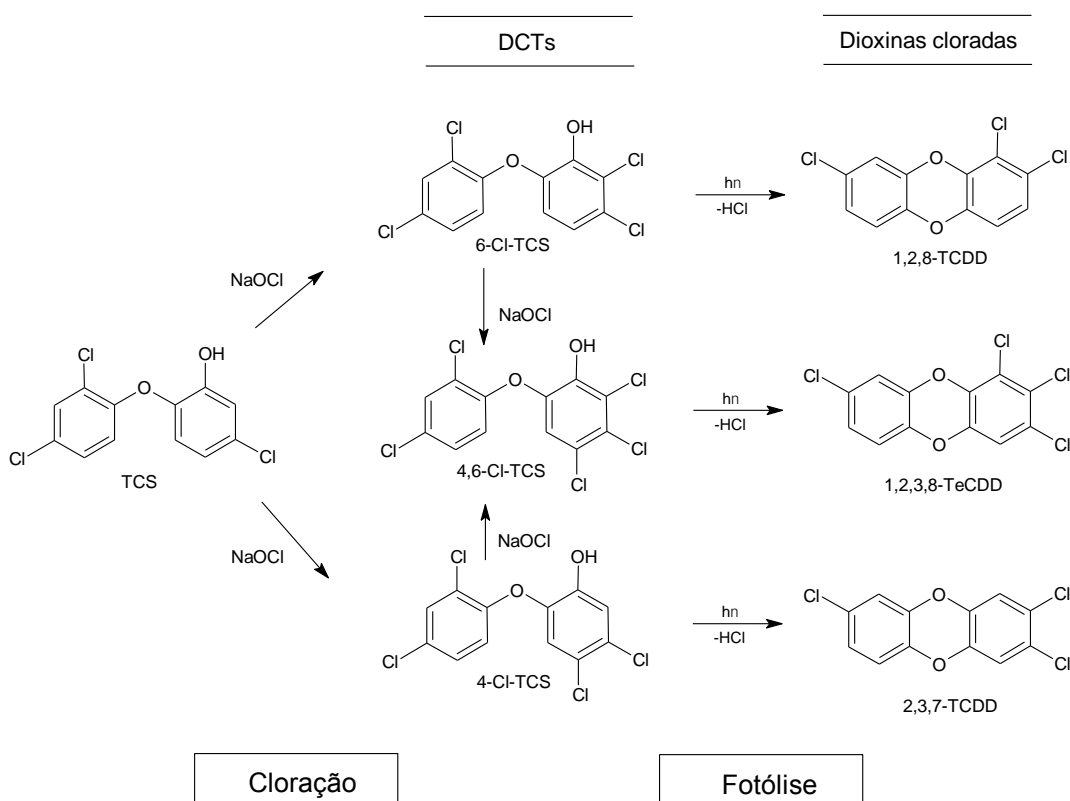


Figura 2. Produtos de cloração do triclosan e dioxinas relacionadas (modificado de Buth *et al.*, 2009). DCTs: Derivados clorados do triclosan; hv: radiação ultravioleta

Em humanos, as dioxinas podem causar uma série de disfunções como problemas de desenvolvimento e reprodução, danos aos sistemas nervoso e imunológico, interferências hormonais e no sistema endócrino e até mesmo câncer (Baird e Cann, 2011). Em função da elevada toxicidade, considera-se amplamente desejável que se reduza a exposição a estes compostos, bem como a redução de processos que culminam na sua formação. A degradação fotoquímica dos derivados clorados do TCS gerando dioxinas contribui para ampliar o impacto do TCS no meio ambiente (Behera *et al.*, 2010 e Buth *et al.*, 2009).

2.4. Ocorrência de triclosan e metil-triclosan no meio ambiente

A ocorrência dos compostos triclosan e MTCS tem sido investigada em matrizes ambientais e biológicas, em diversos países. Em um estudo realizado nos Estados Unidos, a presença de TCS foi confirmada em 58 % de 85 amostras de corpos d'água, com uma concentração média de 0,14 $\mu\text{g L}^{-1}$, níveis equivalentes aos de muitos agrotóxicos (Buth *et al.*, 2009).

A Tabela 3 apresenta as concentrações máximas de TCS e MTCS encontradas em diversas matrizes avaliadas nos últimos anos.

Tabela 3. Ocorrência de triclosan e de metil-triclosan em matrizes biológicas e ambientais

Matriz avaliada, país	TCS ⁽¹⁾ ($\mu\text{g L}^{-1}$)	MTCS ⁽¹⁾ ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Referência
Água de lagoa (Indian River Lagoon), EUA	0,014	ND/NA ⁽²⁾	Fair <i>et al.</i> , 2009.
Água de rio, Índia	5,16	ND/NA ⁽²⁾	Ramaswamy <i>et al.</i> , 2011
Água dos rios Svratka e Svitava, República Checa	0,033	0,024	Jálová <i>et al.</i> , 2013.
Água do Rio Guadalete, Espanha	0,310	0,191	Pintado-Herrera <i>et al.</i> , 2014.
Água marinha (baía), EUA	0,0074	ND/NA ⁽²⁾	Katz <i>et al.</i> , 2013
Águas subterrâneas, Inglaterra	2,11	ND/NA ⁽²⁾	Stuart <i>et al.</i> , 2011
Efluente bruto, EUA	3,4	ND/NA ⁽²⁾	Fair <i>et al.</i> , 2009.
Efluente bruto, Grécia	6,88	ND/NA ⁽²⁾	Stasinakis <i>et al.</i> , 2008
Efluente tratado, Alemanha	0,33	ND/NA ⁽²⁾	Guitart e Readman, 2010

Efluente tratado, EUA	0,19	ND/NA ⁽²⁾	Fair <i>et al.</i> , 2009.
Plasma de golfinhos, EUA	0,27 ng g ⁻¹	ND/NA ⁽²⁾	Fair <i>et al.</i> , 2009.
Sedimento do Rio Guadalete, Espanha	9,6 ng g ⁻¹	1,8 ng g ⁻¹	Pintado-Herrera <i>et al.</i> , 2014.

⁽¹⁾ Concentração máxima quantificada; ⁽²⁾ Informação não disponível, ou não avaliado.

Como pode ser observado na Tabela 3, TCS e MTCS ocorrem não só em efluentes, mas também em corpos d'água naturais e em organismos aquáticos. Por este motivo, apesar da eficiência como agente antisséptico em produtos de higiene, o TCS consiste em um potencial poluente aos sistemas aquáticos naturais.

Considerando a reutilização da água para tratamento e distribuição na rede pública, estes contaminantes e seus derivados podem estar presentes em águas tratadas para o consumo humano. Por este motivo, a determinação destes compostos é de interesse mesmo em concentrações muito baixas e, portanto, as metodologias analíticas empregadas devem ser capazes de medir nos níveis de concentração da ordem de µg L⁻¹ ou menor (Tiburtius e Scheffer, 2014).

2.5. Técnicas analíticas utilizadas para a determinação de triclosan e metil triclosan

Muitos métodos analíticos para determinação de TCS e MTCS em diferentes amostras têm sido reportados na literatura, como cromatografia a líquido com detecção por arranjo de diodos (LC-DAD) (Silva e Nogueira, 2008), detecção na região do ultravioleta (LC-UV) (Buth *et al.*, 2009 e Behera *et al.*, 2010), e espectrometria de massas (LC-MS) (Anger *et al.*, 2013), além de cromatografia a gás acoplada à espectrometria de massas (GC-MS) (Kawaguchi *et al.*, 2008, Ramaswamy *et al.*, 2011 e Katz *et al.*, 2013).

O método US-EPA 1694 de 2007 descreve a metodologia para determinação de resíduos de produtos farmacêuticos e produtos de cuidados pessoais em águas, sólidos e sedimentos por LC-MS/MS. Esta metodologia engloba o TCS, porém, não inclui o MTCS e outros subprodutos importantes.

Devido ao fato de as concentrações do TCS e de seus derivados no ambiente geralmente serem muito baixas, menores que a capacidade de detecção das técnicas analíticas disponíveis (com exceção para as técnicas cromatográficas hífenadas à espectrometria de massa), torna-se necessária a realização da etapa de pré-concentração dos analitos em uma dada amostra, a fim de se superar os limites de quantificação (LOQ) dos métodos selecionados. Métodos de extração e pré-

concentração como extração líquido-líquido (LLE, *liquid-liquid extraction*) e extração em fase sólida (SPE, *solid-phase extraction*), são usualmente empregados para uma grande variedade de compostos orgânicos (Lanças, 2009). Estes métodos de extração possibilitam a remoção seletiva dos analitos da matriz da amostra, com base nas suas propriedades físico-químicas, para menores volumes de extratos finais, o que possibilita uma diminuição significativa dos valores de LOQ dos mesmos. Além disso, a eliminação de grande parte dos componentes da matriz da amostra contribui para o aumento da seletividade do método, reduzindo ou eliminando potenciais interferentes químicos causadores de ruídos no sistema de detecção. Esta redução de contaminações no equipamento analítico promove ainda uma melhora no seu desempenho pela redução da frequência de parada para descontaminação, aumentando assim vida útil de seus componentes.

Além dos procedimentos convencionais por SPE e LLE, a literatura apresenta uma série de possibilidades de formas miniaturizadas de extração, as quais são denominadas microextração. Estas técnicas minimizam o consumo de solventes e insumos, além de reduzirem o tempo dos ensaios e propiciarem boa frequência analítica em relação aos métodos não miniaturizados, sendo geralmente de mais simples manipulação, facilitando a determinação de diversos contaminantes em monitoramento rotineiros.

Dentre as técnicas de microextração, a extração sortiva em barra de agitação – SBSE (do inglês *Stir Bar Sorptive Extraction*) tem merecido destaque em função da grande capacidade de extração de compostos orgânicos em nível de traços.

2.6. Extração sortiva em barra de agitação

O processo de extração por SBSE consiste em duas etapas fundamentais: a extração dos analitos presentes em uma matriz aquosa por uma substância sorvente, presente na superfície de uma barra de agitação magnética (barra sortiva), seguida da dessorção dos analitos para outro meio que possibilite a sua determinação (Borges *et al.*, 2015).

No procedimento de extração, uma barra sortiva é imersa em uma amostra aquosa que possa conter as espécies de interesse. Durante o período de agitação, os compostos que apresentam afinidade química com o sorvente são sorvidos pela fase extratora da barra, geralmente de forma não exaustiva, ou seja, até que se estabeleça um equilíbrio entre as concentrações de soluto na solução da amostra e na barra sortiva (Lanças, 2004). O equilíbrio pode ser deslocado em função das condições do meio de extração, como velocidade de agitação, volume de amostra, tempo de contato, pH,

temperatura, entre outras variáveis do sistema. A sorção dos analitos também pode ser realizada por *headspace*, para o caso de analitos voláteis que apresentem afinidade pelo sorvente (Prieto *et al.*, 2010).

A extração dos analitos de uma amostra pode se dar pelos processo físico-químico de adsorção ou absorção, dependendo da fase sorvente utilizada. Na adsorção, a interação analito-sorvente ocorre apenas na superfície do sorvente e nos seus poros superficiais, estando sua capacidade de extração limitada aos sítios ativos presentes. Já no processo de absorção, o analito penetra na estrutura tridimensional do sorvente, como um líquido penetra em uma “esponja”. Este processo também se refere à partição, que trata do equilíbrio de uma determinada substância entre dois líquidos imiscíveis, não estando, portanto, limitada a uma determinada quantidade de sítios ativos. Desta forma, o processo de absorção apresenta forças de interação maiores do que no processo de adsorção, embora demande em geral, um maior tempo para o estabelecimento de equilíbrio no processo de extração (Mitra, 2003).

Estas barras sortivas apresentam tipicamente comprimentos entre 10 e 40 milímetros, com camada de sorvente entre 0,3 e 1,0 milímetros de espessura, sendo que, quanto maior o comprimento da barra, maior a quantidade de sorvente, e conseqüentemente, maior a capacidade de extração dos analitos (Mitra, 2003). A Figura 3 exemplifica uma barra sortiva.

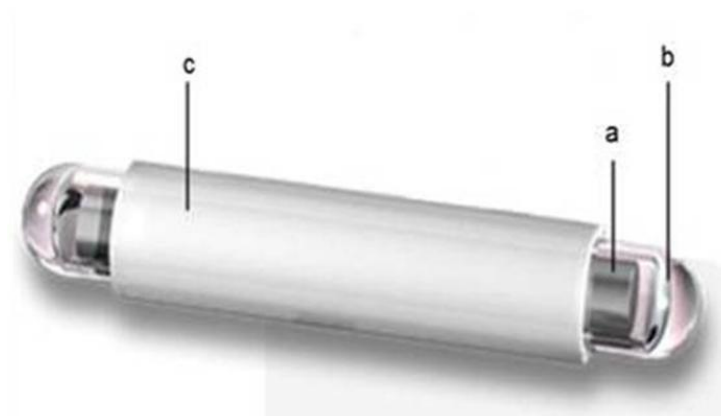


Figura 3. Barra sortiva de agitação magnética, onde: a) núcleo magnético, b) revestimento de vidro e c) fase extratora quimicamente ativada (modificado de www.gerstel.com). Dimensões entre 10 e 20 mm de comprimento

Após a etapa de sorção, a barra sortiva é removida da amostra e os compostos presentes podem ser recuperados. A dessorção pode ser realizada pelo contato com solventes apropriados, ou por dessorção térmica, para compostos voláteis determinados em cromatografia a gás (Kawaguchi *et al.*, 2008). Os extratos obtidos por dessorção

líquida geralmente são determinados por cromatografia a gás ou a líquido. Após a etapa de dessorção, as barras sortivas podem ser descontaminadas e reutilizadas em novos procedimentos de extração.

Esta técnica de extração com barras sortivas foi introduzida em 1999 por Baltussen *et al.* (1999) e vem ganhando aceitação por apresentar diversas vantagens, como boa reprodutibilidade, baixo custo, rapidez e facilidade de manipulação. O fato de não utilizar solventes orgânicos para sorção (técnica *solventless*), e de usar quantidades muito reduzidas de solventes para dessorção dos analitos ou pré-condicionamento das barras sortivas, fazem com que seja considerada ambientalmente favorável (Borges *et al.*, 2015).

A SBSE apresenta grande capacidade de extração de compostos orgânicos em nível de traços (Mitra, 2003). As faixas de concentração dos analitos estudados são de $\mu\text{g L}^{-1}$, chegando a pg L^{-1} para alguns casos, como na determinação de tributilestanho realizada por Camino-Sánchez *et al.* (2012). Em comparações entre métodos, foram reportadas sensibilidades de 100 a 1000 vezes maiores por SBSE do que por SPME para extração de compostos orgânicos em sucos de laranja e vinhos (Mitra, 2003). Além disso, possibilita também a análise multiresíduos, permitindo a determinação simultânea de diferentes classes de compostos orgânicos em uma mesma amostra, quando as condições de extração forem adequadas para os diferentes analitos.

Centenas de aplicações de extrações com barras sortivas têm sido reportadas na literatura em diversas matrizes: amostras biológicas, farmacêuticas, ambientais e alimentícias, como a determinação de antidepressivos em plasma sanguíneo (Melo *et al.*, 2009), de fármacos em fluidos biológicos (Chaves e Queiroz, 2008), por exemplo. A Tabela 4 apresenta outros exemplos de compostos orgânicos extraídos por SBSE.

Tabela 4. Exemplos de aplicações da SBSE

Analitos	Matriz	Tempo de extração	Técnica analítica	Limite de detecção
Geosmina, MIB	Águas	45 min	GC-MS	$0,3 \text{ ng L}^{-1}$
Estrogênios	Água de rio	5 horas	GC-MS	$0,2 \text{ ng L}^{-1}$
HPAs	Água do mar	60 min	GC-MS	$0,14 - 1200 \text{ ng L}^{-1}$
HPAs	Solos	4 horas	GC-MS	-
Clorofenóis	Sedimento	60 min	GC-MS/DT	$1,8 - 3,8 \text{ ng g}^{-1}$
Ác. Tricloroacético/fenóis	Vinho	60 min	GC-MS	$0,3 - 62 \text{ pg L}^{-1}$
Pesticidas	Mel	120 min	GC-FPD	$0,1 \text{ ng g}^{-1}$
Fungicidas	Uvas	120 min	LC-MS	10 ng g^{-1} (LOQ)

Terpenóides	Cervejas	120 min	GC-MS	0,013 – 0,28 $\mu\text{g g}^{-1}$
Pesticidas	Chás	60 min	GC-MS	4,2 – 10,5 ng
Antidepressivos	Plasma	45 min	LC-UV	15 - 40 $\mu\text{g L}^{-1}$
Constituintes voláteis	Leite humano	60 min	GC-MS/DT	-
Cafeína	Sangue	-	GC-MS	0,06 – 0,4 mg L^{-1}
Hormônios sexuais	Urina	2 – 4 horas	HPLC-DAD	0,3 – 1,0 $\mu\text{g L}^{-1}$
PCBs	Esperma	45 min	GC-MS	0,1 ng L^{-1}

Fonte: Prieto *et al.* (2010). MIB: metilisoborneol, HPAs: hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, PCBs: bifenilas policloradas, DT: dessorção térmica, FPD: Detecção com fotometria de chama.

Os métodos descritos englobam várias classes de compostos orgânicos em diversas matrizes, sendo que cada método desenvolvido necessita ser ajustado para determinar as espécies de interesse.

A técnica de SBSE foi desenvolvida com o uso de sorventes baseados em silicone, utilizando nos primeiros anos quase que exclusivamente o polidimetilsiloxano (PDMS) como fase polimérica sorvente. Até o ano de 2010, esta era a única fase sorvente disponível comercialmente em barras sortivas, o que limitou as aplicações da SBSE para algumas classes de compostos, como os mais polares (Prieto *et al.*, 2010). O PDMS é um polímero líquido, não polar, geralmente utilizado como fase sorvente em forma de filmes de variadas espessuras imobilizado na superfície das barras sortivas. As maiores espessuras são mais efetivas para sorção de compostos voláteis em procedimentos por *headspace*, e menores espessuras (inferiores a 7 μm) são apropriadas para compostos de alta massa molar (Mitra, 2003). O mecanismo de interação do PDMS com os analitos orgânicos se dá por absorção ou partição entre a fase sorvente e a água, sendo que a constante de distribuição entre as fases é proporcional ao coeficiente de partição octanol-água ($\log K_{OW}$), o que caracteriza a técnica de extração como não exaustiva. Quanto maior for o volume de PDMS utilizado em SBSE, maior tempo será necessário para se atingir o equilíbrio, porque uma maior massa de analito será transferida para a fase sorvente. O uso de PDMS é restrito para amostras com pH entre 4 e 10 (Mitra, 2003). Além disto, este sorvente apresenta como desvantagem a afinidade não seletiva por compostos com $\log K_{OW}$ maior do que 2 (Marina *et al.*, 2014), o que acaba comprometendo a eficiência analítica pela sorção de componentes indesejados da matriz juntamente com os analitos.

Recentemente, novos materiais têm sido propostos como sorventes para extrações mais seletivas, que envolvem desde fases mistas com PDMS, como carvão ativado, β -ciclodextrinas, divinilbenzeno, álcool polivinílico, polietileno glicol, entre outros, e também novas fases individuais (polipirrol, poliacrilato e poliuretano) (Borges

et al., 2015). Nesse contexto, sorventes que tenham a capacidade de sorver de forma rápida e com boa repetitividade quantidades definidas dos componentes de interesse, e possibilitarem uma eluição que seja fácil e completa, por meio de um solvente apropriado ou termicamente, são altamente desejáveis em química analítica. É importante, portanto, que o processo de sorção dos analitos seja reversível.

2.7. Materiais sorventes e aplicações para SBSE

Para a obtenção de um elevado percentual de recuperação de compostos orgânicos das matrizes de interesse, a seleção do sorvente apropriado é crítica. Para um melhor desempenho, estes precisam apresentar grande área superficial, serem livres de impurezas, estáveis quando em contato com a amostra líquida e posteriormente com o solvente de eluição (Lanças, 2009).

Atualmente, encontram-se disponíveis comercialmente diversos sorventes para utilização em procedimentos analíticos, apropriados para a extração de classes de compostos ou compostos específicos. Eles são divididos em polares, poliméricos, sílicas ligadas e carbonos grafitizados para aplicações gerais, e resinas poliméricas com grupos funcionais, de troca iônica, de imunoafinidade, de acesso restrito e de impressão molecular para propósitos mais específicos (Lanças, 2009). Dentre os sorventes mais comuns utilizados em laboratórios pode-se citar a sílica gel, o carvão ativado, celite, florisil, C18 e amina primária e secundária (PSA). Estes sorventes apresentam afinidades variadas por diferentes classes de compostos, sendo utilizados tanto como fases estacionárias para extrações de compostos ou para processo de purificação de extratos (*clean-up*), sendo que, sorventes com maior seletividade por determinados grupos de analitos auxiliam na minimização de interferências analíticas provenientes das matrizes (Lanças, 2009).

As metodologias analíticas consolidadas na literatura para a determinação de diversos contaminantes, usualmente descrevem quais os sorventes mais adequados para os processos de extração e *clean-up* (U.S EPA, método 1694, 2007). Contudo, os contaminantes emergentes, que são provenientes de fontes antrópicas (como o TCS e alguns de seus metabólitos e subprodutos), necessitam de avaliação quanto à afinidade por diversos sorventes, possibilitando assim o desenvolvimento de métodos analíticos para suas determinações. Este fato evidencia a necessidade de avaliação de novas substâncias sorventes para extração dos compostos orgânicos.

Behera *et al.* (2010) estudaram a capacidade de três substâncias sorventes para a extração do TCS: o carvão ativado e os argilominerais caulinita e montmorilonita, em função do pH do meio, da força iônica e da concentração de ácidos húmicos presentes.

Para este estudo foram avaliados previamente os teores de TCS na amostra antes e depois da adição do sorvente em forma de pó, no modo dispersivo, não sendo aplicada a técnica de extração em barras de agitação sortivas. Foram observadas altas taxas de remoção do TCS do meio, com adsorção máxima de 30 mg de TCS por grama de sorvente, com base na avaliação de isotermas. Este trabalho demonstrou uma possibilidade de remoção dos poluentes das amostras de água para consumo humano.

Aufiero *et al.* (2012) também trabalharam com carvão ativado e diferentes Zeolitas e observaram sua eficiência na adsorção de TCS, entretanto, a grande afinidade química do carvão ativado pode ser um fator negativo em casos onde seja necessária a dessorção destes compostos, o que não foi avaliado pelos autores.

Além da utilização de fases sortivas isoladas, há também linhas de pesquisa envolvendo a combinação de fases sorventes, associando assim seus efeitos de sorção individuais. Um exemplo de fase sortiva dupla envolvendo PDMS e polipirrole (PPY) foi desenvolvida por Melo *et al.* (2009), o qual baseou-se nos mecanismos de adsorção (PPY) e sorção (PDMS) e foi aplicada experimentalmente pela técnica de extração SBSE. Os autores utilizaram as barras sortivas recobertas com esta fase sorvente em extrações de antidepressivos (mirtazapina, citalopram, paroxetina, duloxetina, fluoxetina e sertralina) em amostras de plasma, obtendo alta eficiência de extração e limites de quantificação de 20 a 50 $\mu\text{g L}^{-1}$, coeficiente de determinação superior a 0,99.

Neng *et al.* (2007) verificaram a possibilidade de utilização de espumas poliméricas como fases sorventes para a extração de diversos compostos orgânicos pelo método de extração em barras sortiva a partir de matrizes aquosas. Segundo os autores, as espumas de poliuretanos avaliadas apresentam boa estabilidade e resistência mecânica durante os processos de extração dos analitos em nível de traço, e durante as dessorções dos analitos com solventes orgânicos (em especial a acetonitrila). Os autores realizaram as extrações dos compostos atrazina, 2,3,4,5-tetraclorofenol e fluoreno, e realizaram as determinações por cromatografia líquida.

Outro grupo de materiais que merece investigação para o uso como sorvente é o de resinas do tipo epóxi. Estas resinas são polímeros orgânicos que levam o grupo epóxido em sua composição e estão presentes em diversos produtos comerciais em função de sua versatilidade. As combinações entre os tipos de resinas disponíveis e os agentes de cura utilizados (endurecedores), conferem diversas propriedades às resinas, características como a alta capacidade de adesão a diversos tipos de materiais, boa resistência mecânica, elétrica e ao aquecimento, entre outras, permitindo seu uso para diversas finalidades, como adesivos e revestimentos para superfícies, por exemplo (Jin *et al.*, 2015). Dessa forma, há a hipótese que certas resinas possam atuar como

estratégia de fixação de fases sorventes em barras de extração, ou mesmo como fase sorvente para as TCS e MTCS.

Apesar da importância de aprofundamento dos conhecimentos sobre a ocorrência de TCS e MTCS em águas e efluentes, ainda não está consolidada uma técnica de extração e pré-concentração eficiente e seletiva para os níveis de concentração destes analitos nestas matrizes. Em virtude disto, fica clara a necessidade de avaliação de diversas substâncias sorventes que possibilitem o desenvolvimento de tais metodologias.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

Este estudo teve como objetivo geral o desenvolvimento de barras sortivas para emprego pela técnica de extração sortiva em barra de agitação (SBSE) e sua aplicação na determinação de TCS e MTCS em amostras de águas e efluentes por cromatografia a líquido com detecção por arranjo de diodos (LC-DAD).

3.2. Objetivos específicos

- Estudo de sorventes com afinidades adequadas para os analitos TCS e MTCS, em experimentos de extração em fase sólida por batelada;
- Definição das condições para dessorção dos analitos das fases extratoras pela avaliação de eficiência de determinados solventes;
- Confecção das barras sortivas com materiais adequados, incluindo a imobilização da fase sorvente predefinida;
- Desenvolvimento e ajuste do processo de extração por SBSE, avaliando a eficiência da metodologia com base em parâmetros de mérito;
- Utilização da metodologia analítica desenvolvida para determinação de TCS e MTCS em águas e efluentes.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Reagentes e padrões analíticos

Os padrões analíticos de TCS (97,0 %) e MTCS (99,0 %) foram adquiridos da Sigma Aldrich (Alemanha). As soluções estoque de concentração 500 mg L^{-1} foram preparadas em metanol (J.T. Baker, lote K07C45) e armazenadas em frascos de vidro âmbar em freezer ($\leq -20 \text{ }^\circ\text{C}$). As soluções padrão da curva analítica e as diluições da solução estoque utilizadas nos experimentos de extração foram preparadas por diluição da solução estoque com acetonitrila (J.T. Baker, lote J48C56) de grau cromatográfico.

A água utilizada nos experimentos foi obtida por sistema de deionização por troca iônica, apresentando condutividade elétrica menor do que $1,0 \mu\text{S cm}^{-1}$. Os ajustes de pH das soluções foram realizados utilizando-se solução de hidróxido de sódio, solução de ácido clorídrico, solução tampão pH 7,0 de di-hidrogenofostato de sódio ou solução tampão pH 4,5 de acetato de sódio / ácido acético. Os ajustes foram realizados em potenciômetro previamente calibrado com soluções tampão de pH 7,0 e 4,0 ou 10,0.

Foram utilizados 4-aminoantipirina 99,0 % (Vetec, lote DCBC5882V) e ferricianeto de potássio 99,0 % (Merck, lote A811773) para as reações espectrofotométricas e cloreto de sódio 99,9 % (J.T. Baker, lote J02C71 para estudos da variação na força iônica.

Metanol, clorofórmio (Biotec, lote 37304), acetonitrila e acetato de etila (J.T. Baker, lote J14B03) foram utilizados para preparo dos padrões analíticos, extrações e eluição dos analitos das fases sólidas, sendo todos de grau cromatográfico.

Foram avaliados os seguintes sorventes, quanto à possível afinidade pelo triclosan, visando a sua utilização em barras sortivas: Sílica Gel, Merck, lote TA1373234 606; Montmorilonita (MTK10), Sigma Aldrich, lote 28152-2; Carvão ativado, Merck, lote K42722086 217; Celite 545, Sigma Aldrich, lote BCBL0592V; Florisil (60-100 Mesh), J.T.Baker, lote B35581; C18 (octadecilsilano imobilizada sobre sílica), extraídos de cartuchos de extração Bond Elut, Varian e Amina primária e secundária (PSA), Sigma Aldrich, lote 1659302.

Para a confecção das barras sortivas foram utilizados politetrafluoretileno (PTFE), proveniente de barras de agitação magnética comerciais, vidro de borossilicato e resina epóxi Durepóxi[®], marca Loctite, adquirida no mercado local.

O desenvolvimento do trabalho foi realizado nos laboratórios do Instituto de Tecnologia do Paraná (Tecpar), o qual disponibilizou toda a infraestrutura necessária.

4.2. Amostras analisadas: coleta, preservação e armazenamento

Foram utilizadas as seguintes matrizes ambientais para a extração dos analitos pelas barras sortivas: água deionizada, água mineral, água tratada da rede de abastecimento público, águas de rio e efluente bruto.

A água deionizada utilizada foi obtida por sistema de deionização por troca iônica, apresentando condutividade elétrica menor do que $1,0 \mu\text{S cm}^{-1}$.

A amostra de água mineral utilizada foi adquirida no mercado local, apresentando classificação mineral alcalino-terrosa e fluoretada, com condutividade elétrica aproximada de $320 \mu\text{S cm}^{-1}$.

A amostra de água tratada foi coletada no Tecpar, sendo proveniente do sistema de distribuição pública, sem passar por armazenamentos em caixas d'água.

As amostras de água de rio foram coletadas na cidade de Curitiba / PR, conforme mapa hidrográfico apresentado na Figura 4, onde o ponto a) refere-se ao ponto de coleta do Rio Barigui e o ponto b) ao ponto de coleta do Rio Iguaçu, ambos em regiões de elevada densidade demográfica.

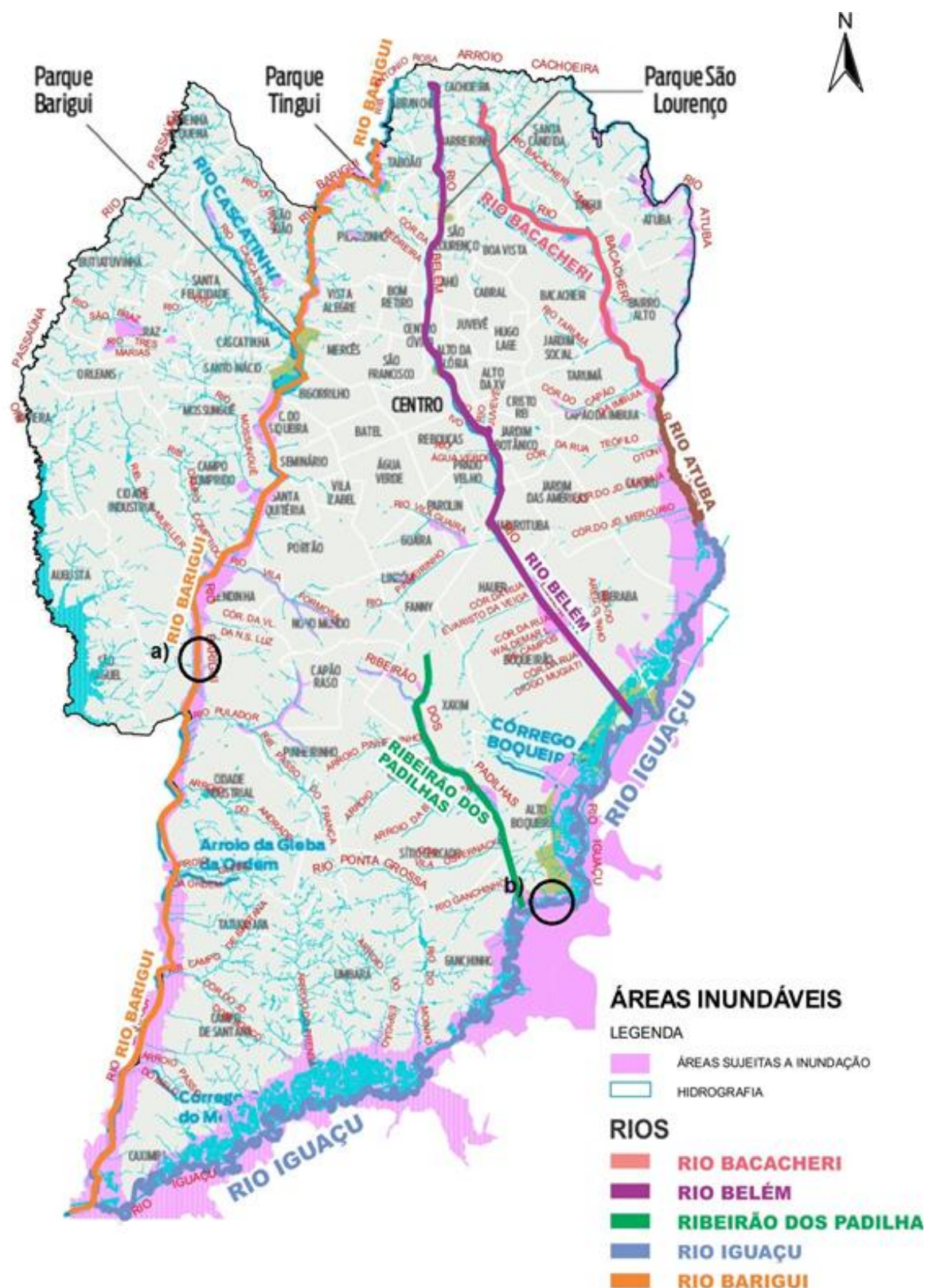


Figura 4. Mapa hidrográfico da cidade de Curitiba / PR, sendo a) Ponto de coleta da amostra do Rio Barigui e b) ponto de coleta da amostra do Rio Iguaçú. Fonte: www.curitiba.pr.gov.br

Os pontos de coleta selecionados são fortemente afetados pela atividade

humana, recebendo descarga constante de efluentes das residências da região.

O efluente sanitário bruto foi coletado no bairro CIC, em Curitiba, em um afluente do Rio Barigui, localizado aproximadamente a 100 metros a montante do ponto de coleta da água do rio a), citado na Figura 4, sendo contaminado com descargas de esgoto doméstico proveniente das residências locais.

A extração dos analitos nestas amostras foi realizada pela agitação com as barras sortivas de epóxi conforme o método desenvolvido neste trabalho, sem qualquer tratamento preliminar.

Após as coletas, as amostras foram acondicionadas em frascos de polietileno, mantidos sob refrigeração (≤ 6 °C) e analisadas em até 24 horas.

4.3. Equipamentos

Os seguintes equipamentos foram utilizados no desenvolvimento dos experimentos:

- Analisador termogravimétrico (TGA) Mettler Toledo, modelo DSC 1 STAR^e System (Suíça);
- Balança eletrônica analítica de 0,1 mg a 200 g, Mettler Toledo, AB 204 S (Suíça);
- Balança eletrônica analítica de 0,01 mg a 42 g, A&D Company, GR-202 (Japão);
- Balança semi-analítica de 0,1 a 4500 g, Mettler Toledo, PB 3002 (Suíça);
- Banho termostático Nova Ética, modelo 521-5D (Brasil);
- Banho de ultrassom Bandelin Eletronic, modelo Sonorex Super RK 510H (Alemanha);
- Cromatógrafo a líquido de alta eficiência com detector de arranjo de diodos (LC-DAD), Agilent 1100 (Alemanha);
- Espectrofotômetro de UV-visível, Thermo Spectronic, modelo Aquamate (Inglaterra);
- Espectrômetro de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES) Varian, modelo VISTA-PRO (Austrália);
- Espectrômetro de infravermelho com transformada do Fourier Jasco, modelo FTIR-4200, (Japão);
- Microscópio eletrônico de varredura marca JEOL JMS-6010 PLUS/A com detectores *backscattered* e EDS (Japão);
- Potenciômetro, Orion, modelo 710 A plus (EUA), com eletrodo para pH Thermo Scientific, modelo ROSS Ultra (EUA);
- Sistema de deionização de água por troca iônica, Millipore, modelo Simplicity (Brasil).

Também foram utilizados equipamentos e materiais auxiliares como agitadores magnéticos, estufa para secagem, mufla, bomba de vácuo acoplada a sistema de

filtração com membranas, unidades filtrantes descartáveis (Millex), refrigerador e freezer para conservação dos padrões analíticos e reagentes, micropipetas de volumes de 20 a 1000 μL da marca Brand e vidrarias diversas.

4.4. Avaliação dos sorventes selecionados

4.4.1. Estudos de sorção

Alguns sorventes foram selecionados para avaliação da afinidade pelo TCS, visando sua aplicação posterior na superfície das barras sortivas confeccionadas. Nesta etapa do trabalho, somente o padrão analítico TCS foi utilizado em função da indisponibilidade do MTCS.

Para avaliação da eficiência de sorção do composto contido no meio aquoso pelos sorventes, foram realizados experimentos promovendo o contato entre a solução contendo o analito e o sorvente em suspensão através de agitação magnética, e a eficiência de extração foi avaliada pela determinação da concentração de TCS remanescente na solução após o tempo de contato.

Para cada um dos sorventes selecionados, foram realizados experimentos em bateladas em função do pH, avaliando-se seis diferentes condições, conforme descrito a seguir:

- a) água deionizada, sem ajuste de pH;
- b) solução de ácido clorídrico $10,0 \text{ mmol L}^{-1}$ (pH 2,0);
- c) solução tampão de ácido acético e acetato de sódio, 10 mmol L^{-1} (pH 4,5);
- d) solução tampão de di-hidrogenofosfato, 10 mmol L^{-1} (pH 7,0);
- e) solução de hidróxido de sódio $0,10 \text{ mmol L}^{-1}$ (pH 10,0); e
- f) solução de hidróxido de sódio $10,0 \text{ mmol L}^{-1}$ (pH 12,0).

Para cada experimento foi utilizado 200 mL de solução e, após o ajuste de pH, foi adicionado 1,00 g do sorvente selecionado (subitem 4.1), de forma a proporcionar uma concentração de $5,00 \text{ g L}^{-1}$ de sorvente. A suspensão resultante foi submetida à agitação em agitador magnético durante 1 hora para o condicionamento do sorvente. Em seguida, a suspensão foi fortificada com $0,50 \text{ mg L}^{-1}$ de TCS e a agitação foi mantida por mais uma hora.

Após o tempo de agitação, as suspensões foram filtradas sob vácuo em papel filtro faixa preta, para remoção das fases sorventes em suspensão.

Para a determinação da concentração de TCS remanescente no filtrado foi utilizado o método espectrofotométrico de quantificação de fenóis totais pela reação

com 4-aminoantipirina (APHA, 2012, método 5530 C), adaptado para o composto TCS.

O método é baseado na reação dos compostos fenólicos com a 4-aminoantipirina em pH levemente alcalino, formando um composto fortemente colorido, conforme a reação apresentada na Figura 5.

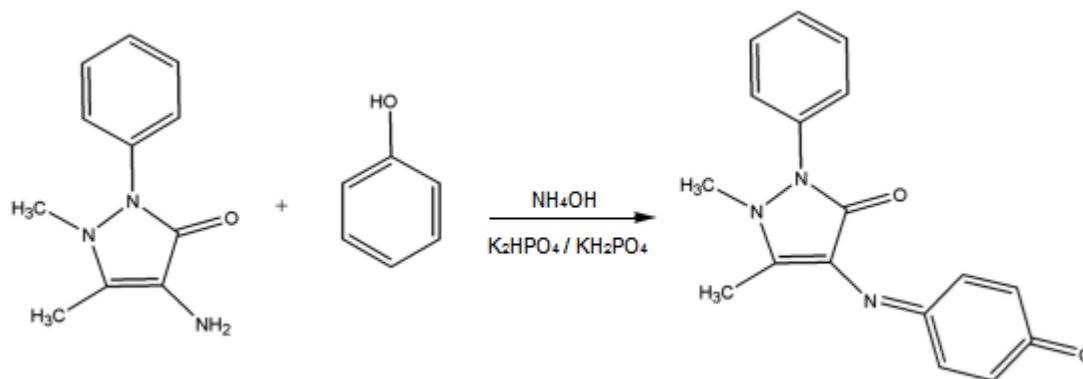


Figura 5. Reação do fenol com 4-aminoantipirina (Fonte: adaptado de Nassiri *et al.*, 2014)

As reações foram realizadas em funis de extração contendo 200 mL de solução aquosa e, após o desenvolvimento da cor, realizou-se uma única extração do composto formado com 10,0 mL de clorofórmio, sendo que o extrato orgânico foi posteriormente separado para determinação espectrofotométrica.

4.4.2. Estudos de dessorção

Os sorventes que apresentaram afinidade satisfatória pelo TCS nos experimentos de sorção foram avaliados quanto à capacidade de dessorção do analito, pela eluição com solventes.

Para tanto, os sorventes utilizados nos experimentos de sorção, retidos na etapa de filtração das suspensões e contendo o analito, foram secos em estufa a 80 °C por 30 minutos e transferidos para cartuchos de extração em fase sólida (SPE) vazios, contendo um disco poroso na parte inferior para evitar a perda do sorvente. Foram efetuados ensaios isolados para verificar a capacidade de eluição do TCS pelos solventes acetonitrila e acetato de etila, ambos adequados para análises por LC.

Foram utilizados 8,0 mL dos solventes, com o auxílio de sistema de extração em fase sólida, sob vácuo, em vazão aproximada de 0,4 mL min⁻¹. O diagrama esquemático do sistema utilizado para eluição dos compostos em cartuchos SPE está representado na Figura 6.

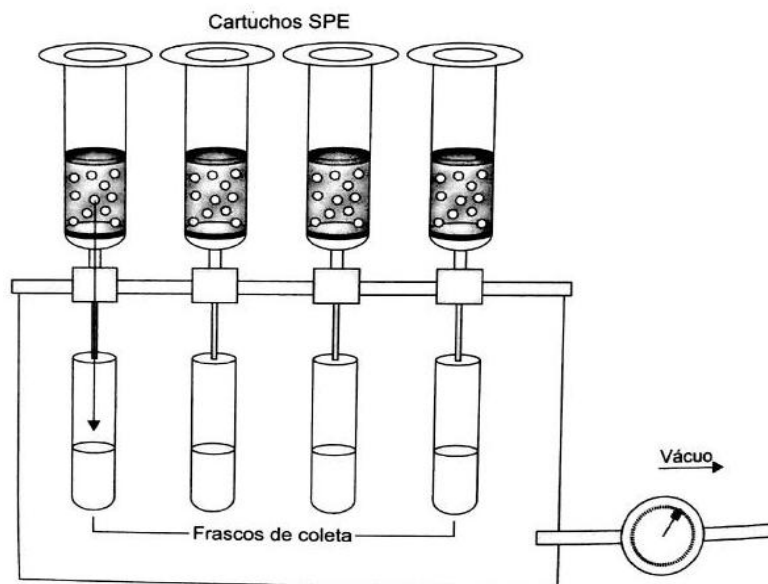


Figura 6. Diagrama esquemático de um sistema para extração em fase sólida (Fonte: adaptado de Lanças, 2009)

Os extratos orgânicos obtidos da dessorção dos sorventes foram transferidos para funis de separação contendo 200 mL de água deionizada, sendo determinadas as concentrações de TCS pelo mesmo método espectrofotométrico utilizado nos ensaios de sorção.

4.5. Preparo das barras sortivas

4.5.1. Barras recobertas com sorvente

Após a definição do sorvente mais adequado para a extração do TCS, avaliado quanto ao maior percentual de sorção e de dessorção do analito, foi iniciado o processo de confecção das barras sortivas. A confecção foi realizada em duas etapas, que incluiu a confecção da barra de agitação e o recobrimento com o sorvente selecionado.

Para a confecção das barras, foram utilizados os materiais: PTFE, vidro de borossilicato e resina epóxi Durepóxi®. As barras de PTFE foram usinadas em um torno, a partir de barras de agitação magnéticas comerciais para o formato de halteres; as barras de vidro foram confeccionadas no setor de hialotecnica do Tecpar e as barras de epóxi foram confeccionadas manualmente no laboratório, sendo um exemplo dessas barras mostrado na Figura 7.



Figura 7. Barras de agitação magnéticas confeccionadas: a) barra de PTFE; b) barra de vidro com C18 e c) barra de epóxi com C18

As barras apresentaram comprimentos entre 20 e 30 mm, diâmetro da parte interna entre 3 e 7 mm e diâmetro nas extremidades entre 4 e 9 mm.

A aderência da fase estacionária na superfície das barras de agitação foi realizada de duas maneiras. Para as barras de vidro borossilicato e PTFE, foram aplicadas finas camadas de adesivos de contato sobre a superfície das barras, sobre a qual foi depositado o sorvente em forma de pó. Foram utilizados dois tipos de adesivos de contato, à base de resina epóxi Instant Mix e à base de éster de cianoacrilatos, Loctite 410, ambos da marca Loctite.

Para as barras confeccionadas com resina epóxi, a deposição da fase sorvente foi realizada imediatamente após a confecção da barra, antes da finalização do processo de cura da resina (endurecimento), pelo simples contato entre a resina e o sorvente, sem a necessidade de uso de adesivos. A quantidade de sorvente aderida foi de aproximadamente 50 mg por barra.

As barras sortivas confeccionadas foram avaliadas quanto à resistência física do sorvente aderido frente às agitações em agitadores magnéticos, à resistência química, pelo contato com os solventes orgânicos utilizados na etapa de dessorção dos analitos, e quanto à capacidade de extração dos analitos de soluções aquosas.

4.5.2. Barras de resina epóxi

Após os experimentos de extração realizados com as barras sortivas de resina epóxi recobertas com o sorvente selecionado, foi levantada a hipótese de que a resina também poderia desempenhar efeito de sorção do TCS. Para avaliação mais detalhada desta possibilidade, foram confeccionadas barras sortivas exclusivamente com resina epóxi, sem adição da fase sorvente.

Para a confecção destas barras, foi preparada a massa de Durepóxi® conforme

orientações do fabricante pela mistura de quantidades equivalentes de seus dois componentes: a resina de epóxi e o endurecedor (agente de cura). Para a padronização de tamanho e formato das barras produzidas, foi utilizado um molde de PTFE, o qual foi confeccionado em um torno para esta finalidade.

Foram confeccionadas oito barras sortivas no formato de halteres, nas dimensões: 20 mm de comprimento, 5 mm de diâmetro nas extremidades e 4 mm de diâmetro no corpo central, utilizando-se como núcleo magnético uma barra cilíndrica de aço medindo 16 mm de comprimento por 1,2 mm de diâmetro. As imagens das barras confeccionadas e do molde de PTFE utilizado na confecção das mesmas podem ser visualizadas na Figura 8.



Figura 8. Barras de resina epóxi confeccionadas e o molde de PTFE utilizado na confecção das mesmas

Todas as barras confeccionadas foram utilizadas em ensaios de extração por SBSE e tiveram sua eficiência avaliada.

4.6. Caracterização da resina epóxi

As barras sortivas confeccionadas, utilizadas nas extrações, bem como a resina de epóxi utilizada no seu preparo, foram analisadas para averiguação de possíveis componentes que poderiam influenciar no efeito de sorção dos analitos das amostras.

A resina de epóxi foi submetida à determinação de seus principais componentes inorgânicos após mineralização em forno mufla a 550 °C por 2 horas. O teor de sílica foi determinado gravimetricamente por fluorização do calcinado, enquanto que os demais elementos foram determinados por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES), após fundição do resíduo mineral com carbonato de sódio e solubilização em ácido clorídrico.

Para a averiguação dos componentes orgânicos e inorgânicos da resina epóxi, foram realizados ensaios por termogravimetria (TGA) e por espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR).

A visualização da superfície das barras sortivas foi realizada por microscopia eletrônica de varredura com detector *backscattered*. Pela mesma técnica, o detector de espectroscopia de energia dispersiva (EDS) possibilitou a caracterização dos elementos químicos presentes na superfície da barra.

4.7. Extração com as barras sortivas

As barras sortivas que apresentaram melhor desempenho nos testes iniciais, demonstrando resistência às agitações mecânicas e ao contato com os sorventes orgânicos, foram utilizadas no desenvolvimento do método de extração de TCS e MTCS por SBSE.

O procedimento de extração com barras sortivas desenvolvido neste trabalho está representado esquematicamente na Figura 9.

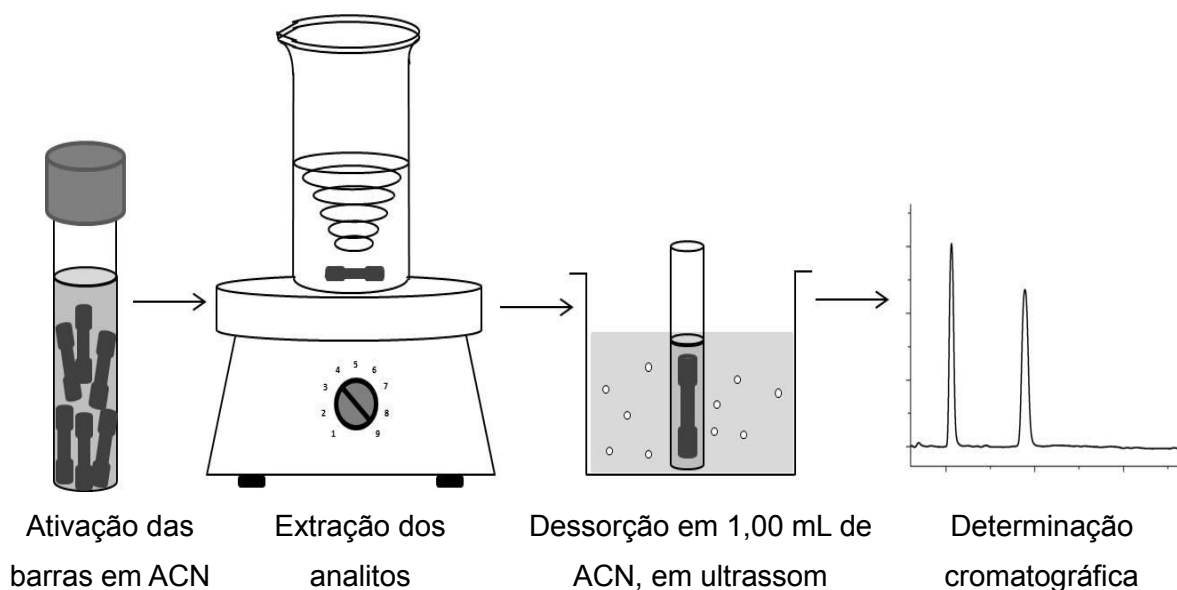


Figura 9. Fluxograma do procedimento analítico desenvolvido para a extração e

determinação de triclosan e metil-triclosan com barras sortivas de epóxi

Após a etapa de extração com as barras sortivas confeccionadas, os analitos foram recuperados das barras por dessorção com acetonitrila. O processo de dessorção foi avaliado em termos de volume de solvente, tempo de contato e efeito do banho de ultrassom. Os extratos obtidos foram filtrados em unidades filtrantes de fluoreto de polivinilideno (PVDF), de porosidade 0,45 μm , acondicionados em *vials* de 1,5 mL e submetidos à determinação por LC-DAD. Nos casos em que não foi possível a execução das determinações imediatamente após a conclusão da extração, os extratos foram armazenados em freezer a temperatura ≤ -10 °C até o momento da determinação.

4.8. Otimização das condições de extração

Para a definição das condições analíticas de extração dos analitos por SBSE, foram avaliados os efeitos das variáveis volume de amostra, tempo de extração, pH, força iônica e temperatura, nos valores apresentadas na Tabela 5.

Tabela 5. Parâmetros avaliados para extração por SBSE

Parâmetro	Valores avaliados
Volume de amostra (mL)	15, 20, 25, 50, 100, 200, 500, 1000
Tempo extração (min)	15, 30, 60, 120, 180, 240 e 480
pH	2,0, 4,0, 8,0, 10,0 e 12,0
Concentração de NaCl (mol L^{-1})	0,1, 0,01 e 0,001
Temperatura (°C)	10, 20, 30, 40 e 50

Para cada condição avaliada, foi realizado um experimento isolado (univariado).

Após o ajuste das variáveis analíticas, foram definidas as faixas de trabalho, e avaliados os parâmetros de mérito precisão e exatidão em ensaios de repetitividade, linearidade, limites de detecção e de quantificação.

4.9. Definição das condições cromatográficas

Para a determinação dos analitos obtidos nos ensaios de extração, foi utilizado um cromatógrafo a líquido de alta eficiência com detector de arranjo de diodos (LC-DAD), com detecção em 230 nm, utilizando-se coluna analítica C18 Agilent, modelo Eclipse XDB-C18, com as dimensões de 150 mm de comprimento x 4,6 mm de diâmetro

e tamanho de partícula 5 μm .

As condições operacionais foram estabelecidas para determinação de TCS e MTCS com base nos trabalhos de Buth *et al.* (2009), Banihashemi e Droste (2014) e Behera *et al.* (2010), adaptando-se para as condições disponíveis no laboratório.

As fases móveis utilizadas foram acetonitrila (fase A) e solução de acetato de amônio 0,50 mmol L⁻¹ e ácido fórmico 0,50 % em acetonitrila/água 1+9 (fase B). A eluição isocrática foi realizada com 80 % da fase A e 20 % da fase B a uma vazão de 0,60 mL min⁻¹. O volume de injeção utilizado foi de 50 μL , realizado em injetor automático em um tempo de corrida de 20 minutos. A aquisição de dados foi obtida empregando o software HP ChemStation Rev. A.05.02[27].

4.10. Definição dos parâmetros de mérito

Foram avaliados os seguintes parâmetros de mérito: linearidade, limites de detecção (LOD) e de quantificação (LOQ), precisão e exatidão. Para a condução das replicatas de ensaios realizadas neste trabalho foram utilizadas barras sortivas diferentes entre si, alternando-se entre as oito barras sortivas confeccionadas.

As curvas analíticas foram preparadas pela extração dos padrões analíticos por SBSE com barras de resina epóxi, em triplicata, sendo que para cada replicata foram utilizados 20,0 mL de solução no intervalo de concentração de 2,50 a 50,0 $\mu\text{g L}^{-1}$, e submetidos à agitação por 60 minutos.

A determinação dos valores de LOD e LOQ foi obtida pela razão entre o sinal e o ruído dos cromatogramas (S/R), calculados como 3/1 e 10/1, respectivamente.

A avaliação da precisão e exatidão do método desenvolvido foi realizada através de ensaios de recuperação dos analitos em água deionizada em três faixas de concentração distintas, sendo sete replicatas para cada faixa de concentração. A exatidão foi avaliada em termos de recuperação percentual e a precisão em termos de coeficiente de variação.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Avaliação da afinidade dos sorventes pelo triclosan

Diversas fases sorventes foram selecionadas em função de sua provável afinidade e capacidade de sorção do composto TCS. Nesta etapa do trabalho, não foi utilizado o padrão analítico de MTCS devido a sua indisponibilidade até o momento, entretanto, em função da similaridade entre suas estruturas moleculares e propriedades físico-químicas, há a possibilidade de que ambos os analitos apresentem afinidades semelhantes com os sorventes de extração estudados.

Em decorrência das suas estruturas químicas, os sorventes avaliados são classificados como não-polares, polares ou trocadores iônicos. Além disso, podem também ter suas superfícies levemente ácidas ou básicas, o que pode ser decisivo para predefinir sua afinidade com a espécie de interesse.

A fim de se avaliar a afinidade do TCS com o sorvente, foram realizados experimentos de extração de TCS em soluções aquosas fortificadas em função do pH. A observação deste fator é importante uma vez que o TCS é um composto fenólico e, por este motivo, sua molécula pode sofrer dissociação iônica. De acordo com a constante de dissociação do TCS (pK_a 7,9), mais de 50 % do TCS estará dissociado em $pH > pK_a$ (Harris, 2012). A partir de pH 9,0 a forma desprotonada é predominante em solução aquosa. A molécula carregada negativamente pode sofrer atração ou repulsão por determinadas fases sorventes, dependendo da carga elétrica na superfície das mesmas, ou pode ser retida por sorventes trocadores de ânions. Por este motivo, o estudo foi realizado abrangendo-se a faixa de pH de 2,0 a 12,0.

5.1.1. Determinação de triclosan na etapa de avaliação dos sorventes

Para a quantificação do TCS na etapa de avaliação dos sorventes, optou-se pela utilização de um método simples e barato, que não fosse afetado pela presença de resíduos dos sorventes de extração nas soluções. Dessa forma utilizou-se o método espectrofotométrico de quantificação de fenóis totais pela reação com 4-aminoantipirina, descrito no Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 22^a edição, 2012, método 5530 C.

A metodologia em questão não é seletiva para o TCS, mas é utilizada para quantificação de fenóis totais em amostras aquosas. Entretanto, como foi utilizado unicamente o TCS como composto fenólico, as informações analíticas obtidas foram exclusivas para este composto.

Para definição do comprimento de onda a ser utilizado na determinação do TCS,

o extrato obtido foi submetido a uma varredura na região do visível, conforme mostrado na Figura 10. Para este experimento, foi empregada uma solução de TCS na concentração de $0,50 \text{ mg L}^{-1}$.

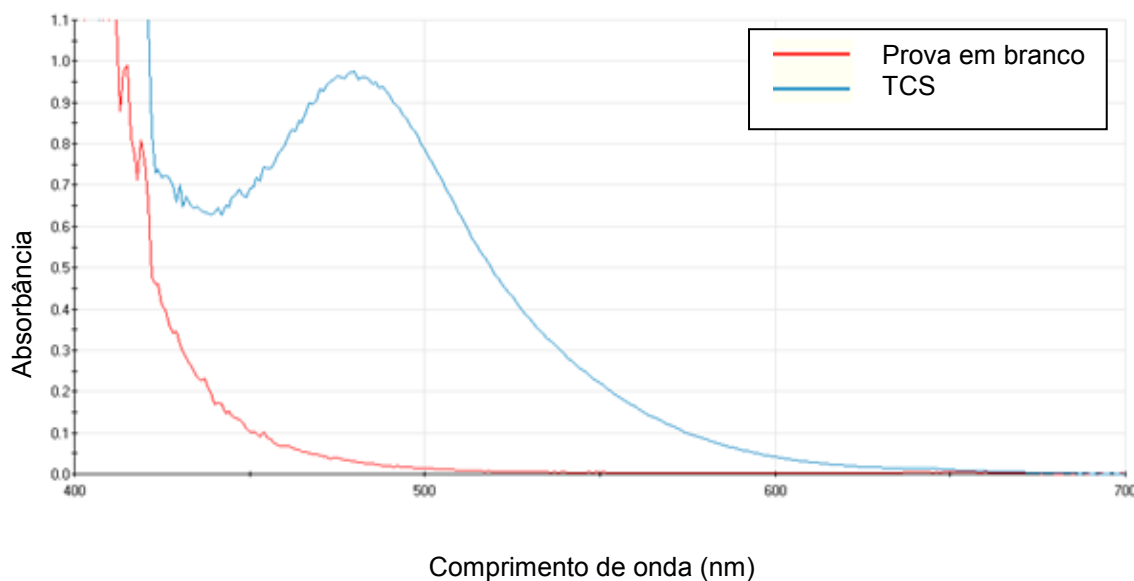


Figura 10. Varredura espectrofotométrica para o composto cromóforo formado a partir do TCS, na concentração de $0,50 \text{ mg L}^{-1}$, pela reação com a 4-aminoantipirina

Constatou-se que no espectro de absorção do TCS na região do visível, o pico de absorção máxima é situado em 480 nm, o qual foi utilizado para quantificação do TCS. Este comprimento de onda difere do descrito na metodologia oficial (460 nm) em função da utilização do TCS como composto fenólico, o que leva à formação de um composto cromóforo com características físico-químicas particulares, e que provavelmente esse seja o motivo do deslocamento da banda de absorção.

Foi elaborada uma curva analítica para quantificação do TCS pelo método espectrofotométrico na faixa $0,05$ e $0,50 \text{ mg L}^{-1}$, e as respostas analíticas para os padrões são apresentadas na Tabela 6.

Tabela 6. Absorbâncias obtidas para a curva analítica elaborada para a quantificação de TCS pelo método espectrofotométrico

Concentração de TCS (mg L^{-1})	Absorbância (480 nm)
Prova em branco	0,029
0,05 (LQ)	0,109
0,10	0,183
0,20	0,346
0,40	0,641
0,50	0,835

Os valores de absorvância foram plotados em função da concentração de TCS, sendo obtida uma adequada linearidade com coeficiente de determinação de 0,9983. A curva analítica obtida pode ser visualizada na Figura 11.

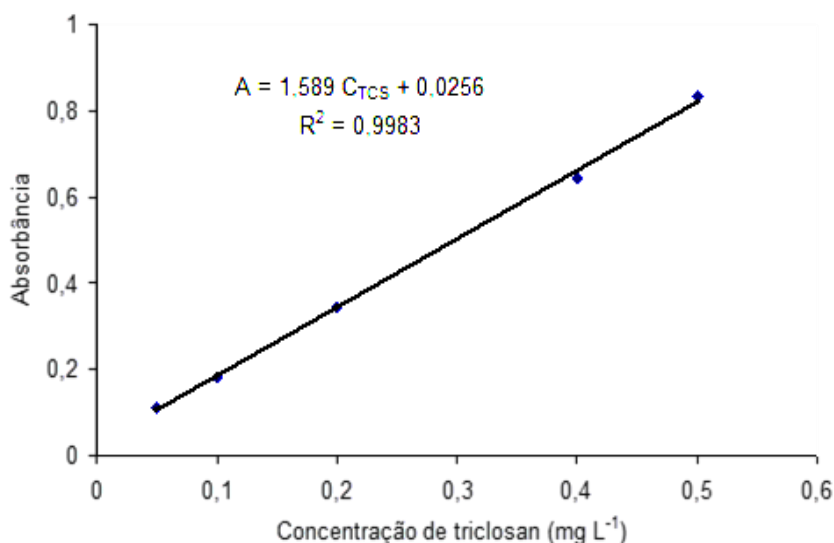


Figura 11. Curva analítica obtida para quantificação de TCS pelo método espectrofotométrico. A = absorvância, C_{TCS} = Concentração de TCS (mg L^{-1})

Os valores de LOD e LOQ foram calculados com base em sete repetições da prova em branco conforme orientações do INMETRO (INMETRO, 2016). Para tanto, foram utilizadas as seguintes equações:

$$\text{LOD} = X + t_{(n-1, 1-\alpha)} \cdot s \quad \text{e} \quad \text{LOQ} = X + 5 \cdot s$$

onde:

X = média dos valores de sete provas em branco;

t é a distribuição de Student (2,447, para 7-1 graus de liberdade e 95 % de confiança);

s = desvio-padrão das provas em branco obtido em sete dias de análise.

O valor de LOD fornecido pela equação foi de $0,02 \text{ mg L}^{-1}$, e o LOQ foi de $0,05 \text{ mg L}^{-1}$, sendo que o valor do LOQ foi utilizado como o primeiro ponto da curva analítica.

5.1.2. Avaliação da eficiência dos sorventes

Para avaliação da eficiência de extração de TCS contido no meio aquoso pelos sorventes, foi determinada a concentração remanescente do analito em solução após o período de contato com os sorventes em relação à concentração inicial, de acordo com a expressão:

$$\text{Eficiência de remoção percentual: } (C_{\text{inicial}} - C_{\text{final}}) \times 100 / C_{\text{inicial}}$$

Onde:

C_{inicial} : Concentração inicial de TCS na solução e,

C_{final} : Concentração final de TCS na solução.

Os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 7.

Tabela 7. Eficiência de remoção de TCS ($0,50 \text{ mg L}^{-1}$) pelos sorventes avaliados (%)

Sorventes	pH				
	2,0	4,5	7,0	10,0	12,0
Sílica Gel	1,6	2,4	24,2	14,2	^a
C-18	62,4	94,5	> 96,0 ^b	51,7	86,9
Carvão ativado	> 96,0 ^b	> 96,0 ^b	> 96,0 ^b	> 96,0 ^b	> 96,0 ^b
Celite 545	1,0	24,0	15,8	26,0	86,6
Florisil	34,8	78,3	60,4	57,3	74,1
PSA	8,2	19,3	21,1	7,9	51,1
MTK10	54,9	48,4	35,0	31,0	^a

^a Não foi possível a determinação, pois as condições extremas de pH comprometeram os sorventes; ^b % de remoção estimada com base no LOQ do método (respostas obtida na solução final inferiores ao LOQ); MTK10: Montmorilonita; PSA: Amina primária e secundária.

A sílica gel ($(\text{SiO}_2)_n\text{-OH}$) apresentou baixa eficiência na remoção de TCS, sendo que um percentual máximo de remoção foi observado em pH 7,0. A baixa eficiência de extração pode ser explicada pelo fato de que os grupos silanóis existentes na sílica interagem preferencialmente com as moléculas de água por ligações de hidrogênio, ficando indisponíveis para a interação com os grupos -OH do TCS (Lanças, 2009). Em pH 12,0 houve dissolução da sílica gel, não sendo possível a realização do experimento.

Uma possibilidade de aumento da afinidade da sílica gel pelo analito pode ser viabilizada pela derivatização deste sorvente, de forma a ligar quimicamente compostos menos polares em sua superfície (Lanças, 2009), permitindo a extração de compostos polares e apolares em função da modificação realizada. Este fato pôde ser comprovado experimentalmente pela eficiência de extração observada para o sorvente C18, que é uma sílica contendo o grupo octadecil, uma cadeia linear de 18 carbonos ligada quimicamente à sílica. Este grupo promove um maior potencial de retenção de compostos de menor polaridade, tendo proporcionado uma remoção superior a 96 % da concentração inicial de TCS nas condições do experimento em pH 7,0. Devido ao seu caráter hidrofóbico, o C18 não foi capaz de formar a suspensão desejada para o experimento, mas permaneceu como fase sólida na superfície da solução, em função de

sua menor densidade. Desta forma, a interação entre analito e sorvente foi promovida pela agitação vigorosa da solução em agitador magnético, de forma a gerar um vórtex. Entretanto, constatou-se em um experimento isolado, que a diminuição da velocidade de agitação reduz significativamente a eficiência de extração do composto (extração de 37 % de TCS em pH 4,5, em agitação sem vórtex), provavelmente, em função do comprometimento do contato entre o TCS e a fase sorvente. Desta forma, a oscilação na eficiência da remoção do composto de interesse do meio aquoso pelo sorvente pode ser causada pela variação da velocidade de agitação, e não pela variação do pH, visto que nos valores de pH 7,0 e 12,0 a extração foi mais efetiva do que em pH 10. Para utilização nas barras sortivas, entretanto, esta característica não deve acarretar interferência, visto que a camada de sorvente aderida à barra ficará sempre em contato com a solução do analito. Além disso, essa fase tem boa afinidade com TCS para extração em fase sólida, conforme relatado na literatura (Lumbreras, 2014).

Outro sorvente com superfície apolar que demonstrou excelente afinidade pelo TCS foi o carvão ativado, apresentando eficiência de remoção maior que 96 %, nas condições do experimento. A grande área superficial do carvão ativado e sua estrutura química contribuem para a alta capacidade de sorção dos mais variados compostos químicos, porém, esta afinidade pode acarretar problemas como a sorção concomitante de um grande número de substâncias interferentes e a baixa dessorção posterior do composto. Estes fatores podem significar limitações do método de extração por SBSE com este sorvente, ou requerer etapas adicionais como lavagem ou *clean up*.

A MTK10, que é proveniente do argilomineral montmorilonita processado industrialmente, apresentou baixa afinidade pelo composto com um valor máximo $0,06 \text{ mg g}^{-1}$ em pH 2,0, considerando a concentração inicial de TCS de $0,50 \text{ mg L}^{-1}$, o que deve estar relacionado ao caráter hidrofílico dessa fase. Convém citar que a MTK10 é um produto comercial, que passou por tratamento térmico (873 K), seguido de tratamento ácido, proporcionando modificações estruturais e nas características físico-químicas em relação ao produto *in natura* (Pinto *et al.*, 2008); porém, este produto apresenta uma boa capacidade de sorção para muitos compostos, tendo, portanto, um atrativo potencial analítico. Em seu trabalho, Liu *et al.* (2014) encontraram uma capacidade máxima de sorção de 9 mg de TCS/g de montmorilonita nas condições experimentais utilizadas. Para aumentar esta capacidade de sorção, os pesquisadores propuseram a modificação superficial do sorvente, a fim de torná-lo mais lipofílico, realizando a adição de surfactantes a base de éster ao argilomineral. Após esta derivatização, o sorvente foi utilizado para sorção de TCS, chegando a apresentar um valor máximo calculado de 133 mg g^{-1} de TCS pelo sorvente, com base no emprego da isoterma de Langmuir. Esta modificação é similar à da sílica com a adição de C18,

conforme mencionado anteriormente.

A amina primária e secundária (PSA) é utilizada largamente em processos de separação em fase sólida (SPE) com base no mecanismo de troca iônica, visto que compostos ácidos (como fenóis) são retidos por trocadores fortes de ânions, do tipo $N^+(CH_3)_3$ (Lanças, 2009). Considerando que o pK_a do TCS é 7,9, sua dissociação deve ser praticamente completa em pH pelo menos duas unidades maior que esse valor. Entretanto, no modo dispersivo em meio aquoso, a extração em pH 10 não foi satisfatória, e somente em pH fortemente alcalino observou-se interação satisfatória (51 % de extração).

O Florisil ($Mg.Al(SiO_4)_n$) é um sorvente polar que também apresentou boa eficiência de remoção do TCS. Foi constatada uma interação significativa em toda a faixa de pH, inclusive em $pH > pK_a$, o que sugere que não foi apenas o grupo fenólico desprotonado do TCS o responsável pela afinidade entre eles. O Florisil é um sorvente de uso comum nos laboratórios, sendo muito empregado na remoção de interferentes químicos em extratos orgânicos de matrizes destinadas à determinação de resíduos de agrotóxicos. Segundo Lanças (2009), compostos polares podem ser fortemente sorvidos em sua superfície, dificultando a sua eluição com eluentes comumente empregados nessa técnica.

5.2. Dessorção do TCS dos sorventes

As fases C18 e carvão ativado, que foram os sorventes que demonstraram melhor desempenho nos ensaios de remoção do TCS, foram selecionados para avaliação da capacidade de dessorção do analito por solventes.

A escolha dos solventes de eluição em extrações em fase sólida seguiu os critérios usualmente utilizados em LC, baseando-se na polaridade relativa dos solventes, denominada série eluotrópica (ϵ°). Quanto maior o valor de ϵ° do solvente, mais facilmente ele removerá o analito da fase sólida. Em processos de separação envolvendo analitos de baixa polaridade, como os estudados TCS ($\log K_{OW} = 4,8$) e MTCS ($\log K_{OW} = 5,1$), retidos em fases apolares como o C18, solvente com ϵ° maior do que 0,4 devem ser adotados (Lanças, 2009).

Inicialmente foi conduzida a lavagem do sorvente C18 com acetonitrila ($\epsilon^\circ: 0,50$), e o extrato obtido foi analisado por espectrofotometria, sendo obtida uma recuperação de 98 % do TCS retido durante o teste de sorção, demonstrando uma adequada recuperação do analito estudado. A acetonitrila também possui a vantagem de ser um solvente adequado para a injeção nos sistemas de cromatografia líquida, não necessitando de troca de solventes após a etapa de dessorção dos analitos das barras

sortivas, em etapas futuras.

Ensaio de dessorção do analito do carvão ativado não demonstraram recuperação com acetonitrila e nem com acetato de etila ($\epsilon^\circ = 0,45$), uma vez que a recuperação obtida foi menor do que o LOQ do método analítico utilizado. Esse aspecto, aliado à baixa seletividade deste sorvente, indicaram que o mesmo seria inadequado para o uso em barras sortivas.

Desta forma, o C18 foi considerado um sorvente mais adequado dentre os estudados para a utilização nas barras sortivas, pois demonstrou elevado percentual de sorção, pelo menos na concentração inicial de $0,50 \text{ mg L}^{-1}$ de TCS, bem como dessorção completa deste analito com acetonitrila.

5.3. Confeccção das barras sortivas

Após as definições da fase estacionária C18 como sorvente de extração e da acetonitrila como solvente de dessorção dos analitos, foi dado início ao processo de confeccção das barras sortivas. Todas as barras de agitação foram confeccionadas em formato de haltere, conforme mostrado nas Figuras 7 e 8. Este modelo visa proteger a parte central da barra do desgaste por atrito durante a agitação, aumentando o tempo de vida útil das mesmas, conforme proposto por Yu e Hu (2012).

Inicialmente, foi investigada a possibilidade de uso de barras confeccionadas com os materiais vidro e PTFE. Para isso, as barras foram moldadas a partir dos materiais de origem para o formato de halteres, sendo posteriormente recobertas com o sorvente C18. Para a adesão do sorvente, foi aplicada uma fina camada dos adesivos de contato selecionados na superfície das barras (conforme item 4.5.1), e em seguida foi promovido o contato com o sorvente C18 na forma de pó, permitindo a sua adesão à superfície da barra.

Para barras de PTFE, não foi possível a fixação do sorvente em sua superfície, em função da baixa afinidade deste material com os adesivos de contato selecionados. Por este motivo, não se obteve sucesso nas extrações com barras de PTFE.

As barras sortivas de vidro foram submetidas ao uso após o tempo requerido para a secagem do adesivo, para avaliação quanto à resistência física e química frente à agitação em agitador magnético e ao contato com o solvente utilizado na dessorção do analito. Observou-se, entretanto, escamação e perda parcial do sorvente aderido, causando destruição progressiva da barra sortiva após poucas vezes de uso. Esta deterioração foi observada para ambos adesivos utilizados. Desta forma, não foi possível utilizar barras de vidro para proceder as extrações.

Yu e Hu (2012) prepararam barras sortivas de vidro em laboratório, com o auxílio

de adesivos como colas epóxi e cola de PDMS, e também se depararam com o problema de perda do sorvente por descamação, porém, conseguiram reutilizar a mesma barra de agitação por até 20 vezes. Os autores confeccionaram barras sortivas com C18 e obtiveram bons resultados na remoção de sulfonamidas em amostras de leite.

Prieto *et al.* (2010) também relatam as dificuldades encontradas por diversos autores na confecção *in-house* das barras sortivas, e citam alguns procedimentos que visam auxiliar nesta tarefa. Uma delas é o uso da tecnologia sol-gel, um procedimento para a preparação de filmes espessos que visam à estabilidade da camada de sorventes frente o contato com os solventes e as altas temperaturas. Outra abordagem trata do uso de materiais monolíticos, através da polimerização de mistura de monômeros com determinados solventes, de forma a sintetizar polímeros com microporos que apresentem características de permeabilidade, auxiliando na transferência de massa dos analitos durante as extrações. Alguns dos monômeros utilizados foram a vinilpirrolidona, a vinilpiridina, o metacrilato, entre outros, porém, as eficiências de extração observadas com estes materiais não foram tão boas quanto as esperadas.

Como alternativa ao uso de adesivos de contato citados no item 3.4.1., foi realizada a confecção de barras sortivas de resina epóxi pela adesão da fase sorvente na resina fresca durante a moldagem das barras, antes da finalização da cura da resina (endurecimento). Desta forma, 48 horas após o preparo das barras, as mesmas foram submetidas à agitação mecânica onde apenas o excesso de sorvente aderido foi removido. A fina camada de C18 remanescente na superfície da barra permaneceu firmemente aderida, e demonstrou resistência às novas etapas de agitação magnéticas, bem como ao contato com os solventes acetonitrila e acetato de etila. Desta forma, foi possível a realização dos experimentos iniciais de extração com estas barras sortivas.

Foram confeccionadas, em paralelo, barras sortivas de resina epóxi sem a utilização de sorventes em sua superfície, visando à avaliação de possíveis interações entre a resina e os analitos durante as extrações.

5.4. Determinação de triclosan e metil-triclosan por LC-DAD

Para a determinação dos analitos TCS e MTCS nos extratos obtidos após a extração pelas barras sortivas, optou-se pela utilização da técnica de LC-DAD, visto que essa técnica fornece adequada seletividade, além de usualmente não requerer pré-tratamentos ou derivatizações dos analitos estudados.

O comprimento de onda utilizado para detecção dos analitos foi avaliado

previamente por espectrofotometria, e pode ser visualizado na Figura 12.

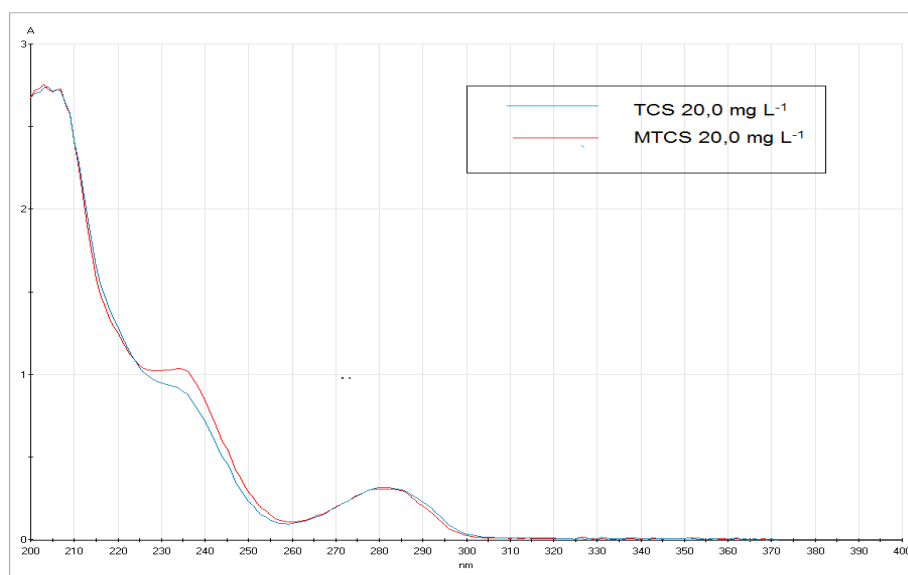


Figura 12. Espectro de absorção dos analitos TCS (linha azul) e MTCS (linha vermelha), 20,0 mg L⁻¹ em acetoneitrila, em função do comprimento de onda (nm)

O espectro de absorção na região do ultravioleta e visível demonstra que o comprimento de onda 230 nm é adequado para a determinação de TCS e MTCS no sistema cromatográfico usando o DAD. O máximo de absorbância em 205 nm está muito próximo do limite de transparência para os eluentes utilizados (Silverstein, 1994), além de muito sujeito a interferências, enquanto que em 280 nm o coeficiente de absorvidade molar possui intensidade cerca de um terço menor que o de 230 nm, o que aumentaria o LOD do método.

Foram preparadas inicialmente as curvas analíticas pela diluição direta dos padrões de TCS e MTCS, sem a etapa de extração preliminar pelas barras sortivas.

As condições analíticas predefinidas forneceram resolução cromatográfica satisfatória para os compostos estudados, com tempos de retenção de 5,3 e 9,5 min para o TCS e MTCS, respectivamente, bem como ausência de interferências cromatográficas na prova em branco. Os padrões analíticos foram preparados em triplicata, na faixa de 0,05 a 2,00 mg L⁻¹ dos analitos, sendo os respectivos cromatogramas mostrados na Figura 13.

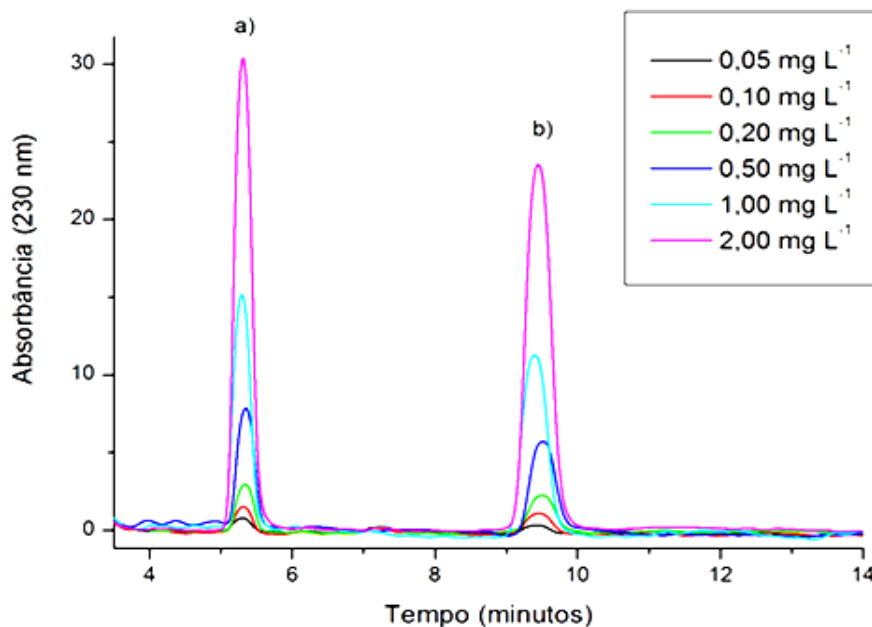


Figura 13. Cromatogramas sobrepostos para elaboração da curva analítica obtida por diluição direta dos padrões em concentrações entre 0,05 e 2,00 mg L⁻¹, onde: a) TCS (tr: 5,3 minutos) e b) MTCS (tr: 9,5 minutos)

Com base nas áreas de pico obtidas na Figura 13, foram elaboradas as curvas analíticas exibidas na Figura 14.

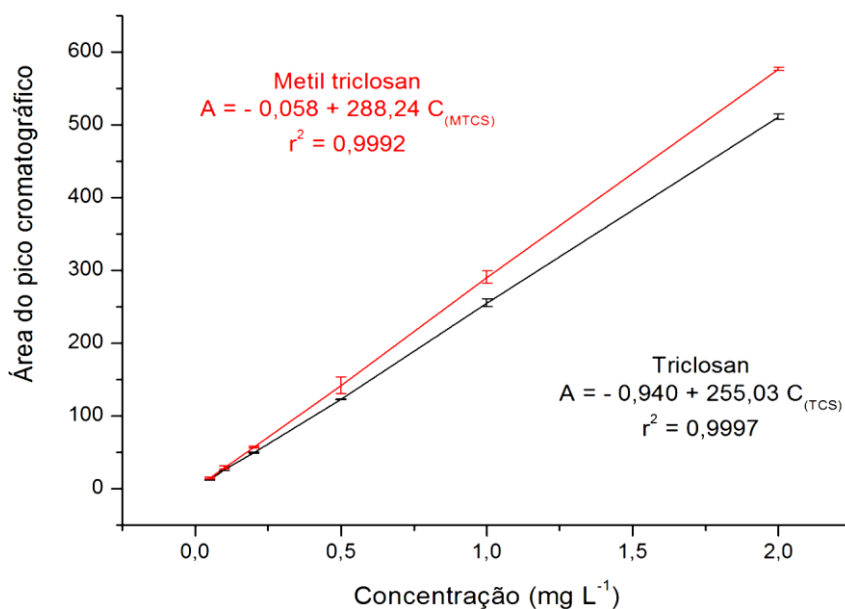


Figura 14. Curvas analíticas obtidas para TCS e MTCS. As barras correspondem à estimativa do desvio padrão de triplicatas. A: Área de pico em 230 nm, $C_{(MTCS)}$: concentração de MTCS e $C_{(TCS)}$: concentração de TCS

As curvas analíticas foram avaliadas quanto ao modelo linear utilizando-se o método de análise de variâncias – ANOVA (Barros *et al.*, 2001), sendo observada adequada linearidade, com coeficientes de determinação - $r^2 = 0,9997$ e $0,9992$ para TCS e MTCS, respectivamente. Os testes F para a regressão e para os valores de desvio padrão, e a aleatoriedade dos resíduos indicaram que o modelo linear é válido e bem ajustado à faixa de concentração definida.

Os valores de limite de detecção e limite de quantificação instrumentais (LDI e LQI) foram calculados a partir da expressão $LDI = (3s_{y/x})/m$, (Harris, 2012) onde $s_{y/x}$ representa o desvio padrão dos resíduos de y no ajuste de regressão linear entre as áreas de pico e a concentração dos analitos e o termo m é o coeficiente angular da reta ajustada. O LQI foi estimado como sete vezes o valor do LDI para TCS e oito vezes para o valor do LDI para o MTCS, o que caracteriza o primeiro ponto da curva analítica ($0,05 \text{ mg L}^{-1}$) como adequado, de acordo com os critérios do INMETRO.

Convém salientar que estas curvas analíticas foram utilizadas nos experimentos iniciais, na identificação dos picos cromatográficos dos padrões analíticos, na avaliação do efeito das variáveis do sistema de extração, e para a avaliação dos analitos em termos da recuperação percentual, obtidos por extração em barras sortivas, em relação a soluções padrão sem extração. Entretanto, para a definição dos parâmetros de mérito do método e para a sua aplicação em matrizes ambientais, foram confeccionada novas curvas analíticas para TCS e MTCS, contemplando a etapa de extração inicial dos compostos a partir de soluções aquosas pelas barras sortivas.

5.5. Extrações com barras sortivas de resina epóxi com C18

A técnica de extração em barra sortiva foi avaliada com a utilização das barras preparadas com resina epóxi recobertas com C18 para a extração do TCS.

Testes iniciais de recuperação foram realizados em amostras contendo concentração relativamente elevada do analito (200 mL de solução de TCS a $50,0 \mu\text{g L}^{-1}$) a fim de se obter um indicativo da capacidade de extração da barra sortiva. O tempo de agitação utilizado foi de uma hora e a dessorção realizada em etapa única com 2,0 mL de acetonitrila. Os resultados iniciais forneceram recuperações do analito relativamente baixas (cerca de 20 %), o que demonstrou a necessidade da avaliação do efeito de variáveis do sistema isoladamente, a fim de aumentar a capacidade de extração das barras sortivas.

Novos ensaios foram conduzidos variando-se o volume total de solução, e avaliou-se a influência desta variável na extração do TCS. O tempo de agitação foi mantido fixo em uma hora, e os resultados obtidos são apresentados na Figura 15.

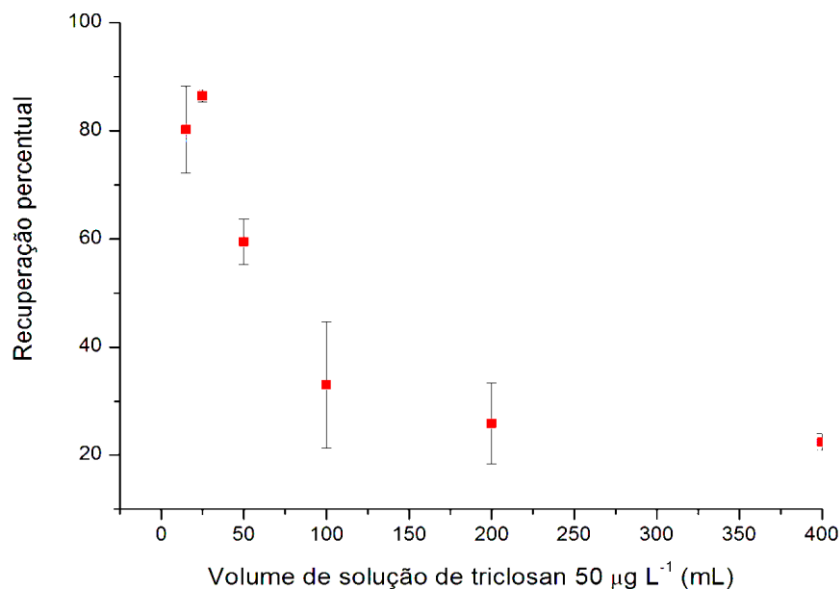


Figura 15. Recuperação de TCS em função do volume de solução, em soluções com concentração de $50,0 \mu\text{g L}^{-1}$ de TCS e tempo de extração de 60 min, com barras de époxi com C18, $n = 3$

Uma melhora na recuperação do TCS foi observada com a utilização de menores volumes de solução. Este fato pode ser atribuído a uma melhora no transporte de massa da solução para a fase extratora, devido ao maior contato do composto com a fase sorvente verificada em menores volumes de solução (Borges *et al.*, 2015).

Com base nos percentuais extraídos em cada volume, foi possível afirmar que o equilíbrio de extração ocorreu com a sorção de cerca de $1 \mu\text{g}$ de TCS. Esta característica faz com que a técnica seja adequada para determinações em nível de traços de contaminantes.

Com este experimento inicial foi possível observar uma eficiência de recuperação de 87 % do analito em 25,0 mL de solução em concentração de $50,0 \mu\text{g L}^{-1}$, após uma hora de agitação e única dessorção em 2,0 mL de acetonitrila.

5.6. Dessorção dos analitos das barras sortivas

Após a etapa de extração com as barras sortivas confeccionadas, os analitos foram recuperados por dessorção com ACN. Para a definição das condições de dessorção, inicialmente foi utilizado o volume de 2,00 mL de ACN, de forma a submergir completamente a barra sortiva em um tubo de ensaio, o qual foi submetido ao banho de ultrassom por 20 minutos. Constatou-se que apenas uma etapa de extração foi suficiente para a transferência completa dos analitos sorvidos para o solvente, não

sendo detectada a presença dos mesmos em dessorções subsequentes. Em função disto, optou-se pela redução do volume de ACN para 1,00 mL, situação na qual também foi observada a recuperação completa dos analitos, sem a constatação de efeito de memória. Menores volumes de solvente foram insuficientes para submersão completa das barras sortivas, e por este motivo não foram avaliados. Em seguida, foi avaliado o efeito da diminuição do tempo de exposição ao banho de ultrassom para 15 e 10 minutos, situações onde a recuperação dos analitos também foi adequada. Constatou-se também apropriada recuperação dos analitos pela ACN em contato por 30 minutos, sem a utilização de banho de ultrassom. Entretanto, em função do aumento do tempo do ensaio, este procedimento não foi utilizado nos experimentos.

Desta forma a dessorção dos analitos foi realizada pela imersão completa das barras sortivas em 1,0 mL de acetonitrila em tubos de ensaios, por um período de 10 minutos em banho de ultrassom. Essa condição implicaria em fator de enriquecimento dos analitos de 20 vezes, em função do volume de amostra de 20,0 mL, utilizado nas extrações em relação ao volume final de extrato, se a extração fosse exaustiva.

Em seus experimentos, Marina *et al.* (2014) utilizaram 1,5 mL de ACN para dessorção de TCS e MTCS das barras sortivas de PDMS comerciais, o que demonstra similaridade nos processos de recuperação dos analitos entre as barras de epóxi e as barras comerciais de PDMS na etapa de dessorção dos analitos.

5.7. Efeito da resina epóxi na sorção do analito

Com o bom desempenho demonstrado pela barra de resina epóxi com C18, foi levantada a hipótese de esta resina também apresentar efeito de sorção dos analitos, juntamente com o sorvente C18. Para confirmar esta hipótese, foram confeccionadas barras de agitação unicamente com a resina epóxi, sem adição da fase C18 em sua superfície, conforme apresentado na Figura 8.

Estas barras sem C18 foram utilizadas em ensaios de recuperação de TCS em soluções similares às usadas nos ensaios com barras sortivas contendo C18. As determinações foram realizadas em duplicata, e foram observadas recuperações de 65,0 e 67,3 % nos experimentos contendo 15,0 mL de solução de TCS em concentração inicial de 50,0 $\mu\text{g L}^{-1}$.

Também foram conduzidos experimentos comparativos entre barras sortivas de resina epóxi com e sem a fase C18 e os resultados podem ser visualizados na Figura 16. Estes experimentos foram conduzidos com volume de solução entre 15 e 200 mL e concentração dos analitos de 5,00 a 50,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ entre os grupos comparativos, porém, em cada grupo analisado, as condições foram similares para as barras utilizadas.

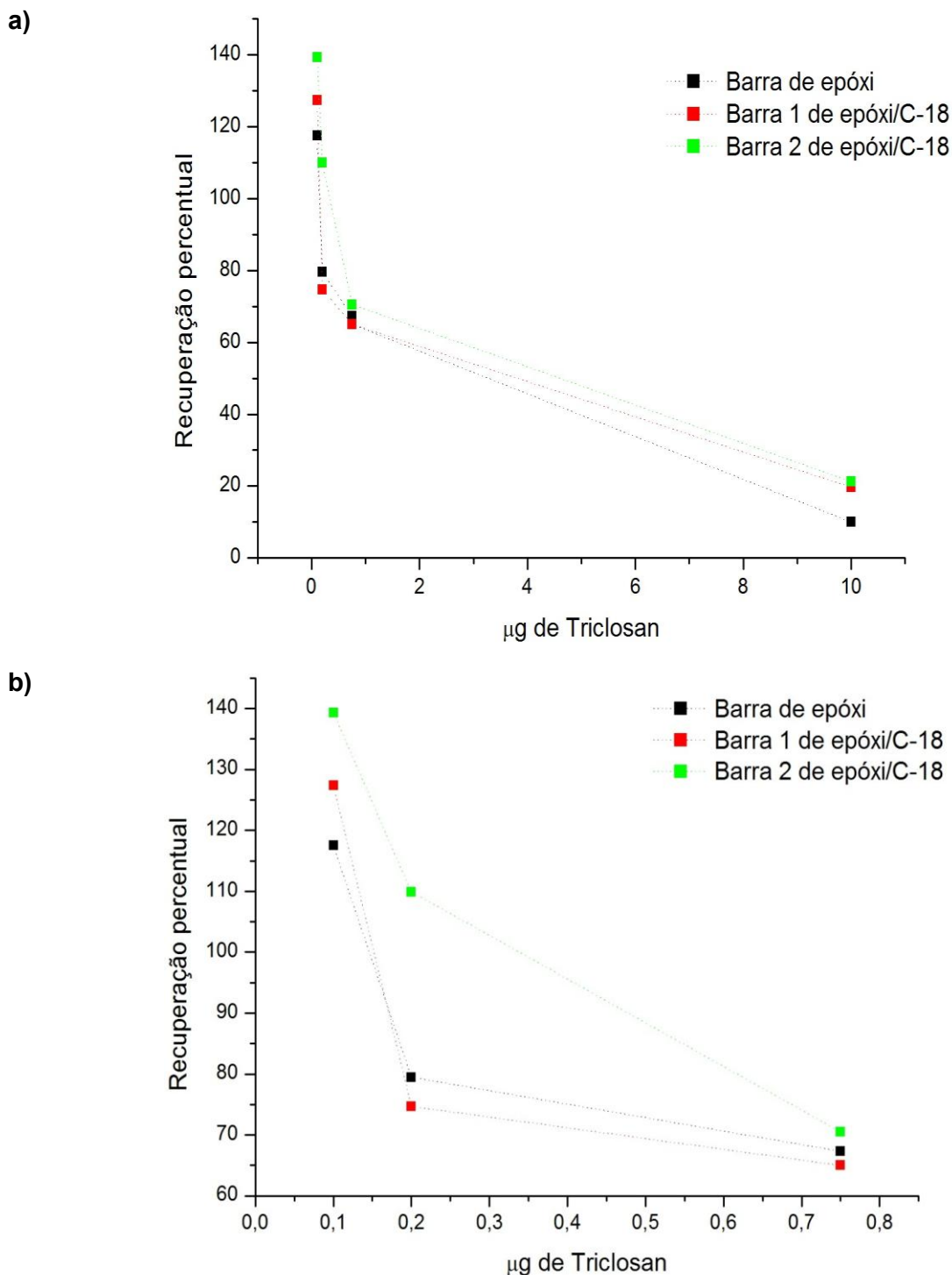


Figura 16. Desempenho de barras de epóxi com e sem sorvente C18 na recuperação de TCS, onde: a) até 10 µg de TCS, e b) parte inicial da figura a) com escala ampliada para massas até 0,75 µg. Experimentos com volume e concentração do analito variáveis entre os grupos comparativos, sendo: 10,0 µg: 200 mL de solução 50,0 µg L⁻¹, 0,75 µg: 15,0 mL de solução 50,0 µg L⁻¹, 0,20 µg: 20,0 mL de solução 10,0 µg L⁻¹ e 0,10 µg: 20,0 mL de solução 5,0 µg L⁻¹

Os resultados obtidos demonstram que, para as barras com e sem C18, a

eficiência de extração de TCS aumentou com a diminuição da massa total de analito, confirmando que o sorvente epóxi é adequado para determinação de traços desta substância. Para 10 μg de TCS, com a barra de resina epóxi foi verificada uma recuperação de 10 % do analito, enquanto que na presença de C18 foi recuperado em torno de 20 %. Esta diferença entre as capacidades permanece para concentrações mais baixas, porém, com efeito, menos pronunciado para massas de TCS abaixo de 1 μg .

Em parte, as variações observadas podem também ser atribuídas às variações de tamanho das barras que, por serem confeccionadas artesanalmente, apresentam variações de tamanho e de área superficial entre si, o que pode resultar em diferentes capacidades de extração. Visando uma melhor avaliação da fixação da fase sorvente na superfície das barras, foi efetuada uma imagem ampliada 20 vezes em lupa eletrônica para comparação visual entre as barras de epóxi e epóxi-C18, conforme mostra a Figura 17.



Figura 17. Comparação visual entre barra de resina epóxi com C18 (acima) e sem C18 (abaixo). Imagem ampliada 20 vezes em lupa eletrônica

A Figura 17 mostra que a barra sortiva de resina epóxi recoberta com a fase C18 ainda apresenta grande parte de sua superfície livre, o que se deve à eficiência da técnica adotada para a fixação da fase sorvente. Por este motivo, embora tenha sido constatada eficiência na sorção do TCS, a competição entre a resina e o sorvente C18 impediu uma clareza na avaliação dos efeitos de sorção individuais. Além disso, as

barras de epóxi que receberam a incorporação de C18 apresentaram variação entre si na quantidade de sorvente aderido na sua superfície e no tamanho das barras, o que provavelmente tenha contribuído para uma baixa repetitividade das extrações.

Neste caso, devido ao efeito de sorção desempenhado pelo epóxi, este não foi considerado um suporte adequado para avaliação dos efeitos de sorção da fase C18 por SBSE para as espécies de interesse, nas condições disponíveis e desenvolvidas neste trabalho. Apesar disso, barras confeccionadas com esta resina poderiam ser adequadas para suportarem o recobrimento com este ou outros sorventes, para a determinação de outros analitos que não apresentem afinidade aos componentes da resina. Desta forma, a técnica agrega nova funcionalidade à resina epóxi, a qual não foi observada em pesquisas de bases científicas até o momento.

Face ao exposto, a continuidade do trabalho foi direcionada para estudo do efeito de sorção exclusivo da resina epóxi como barra sortiva, avaliando a estabilidade frente à acetonitrila, bem como as diferentes condições de extração dos analitos.

Foram confeccionadas oito barras sortivas de resina epóxi com o auxílio de um molde de PTFE, o qual foi utilizado para a padronização de tamanho e formato entre as barras, visando a repetitividade nos processos de extração por SBSE. Optou-se pela confecção em formato de halteres visando à preservação da parte central da barra frente aos desgastes ocasionados pela agitação mecânica, conforme pode ser visualizado na Figura 8.

5.8. Características físico-químicas das barras de resina epóxi

Em decorrência da interação existente entre a resina epóxi e o TCS, e pelo fato de ter sido feita a opção de usar a resina como fase sorvente, foi decidido proceder uma avaliação mais pormenorizada das características da resina.

As superfícies das barras sortivas de resina epóxi utilizadas nos ensaios de extração foram visualizadas em microscópio eletrônico de varredura, e as imagens obtidas podem ser observadas na Figura 18.

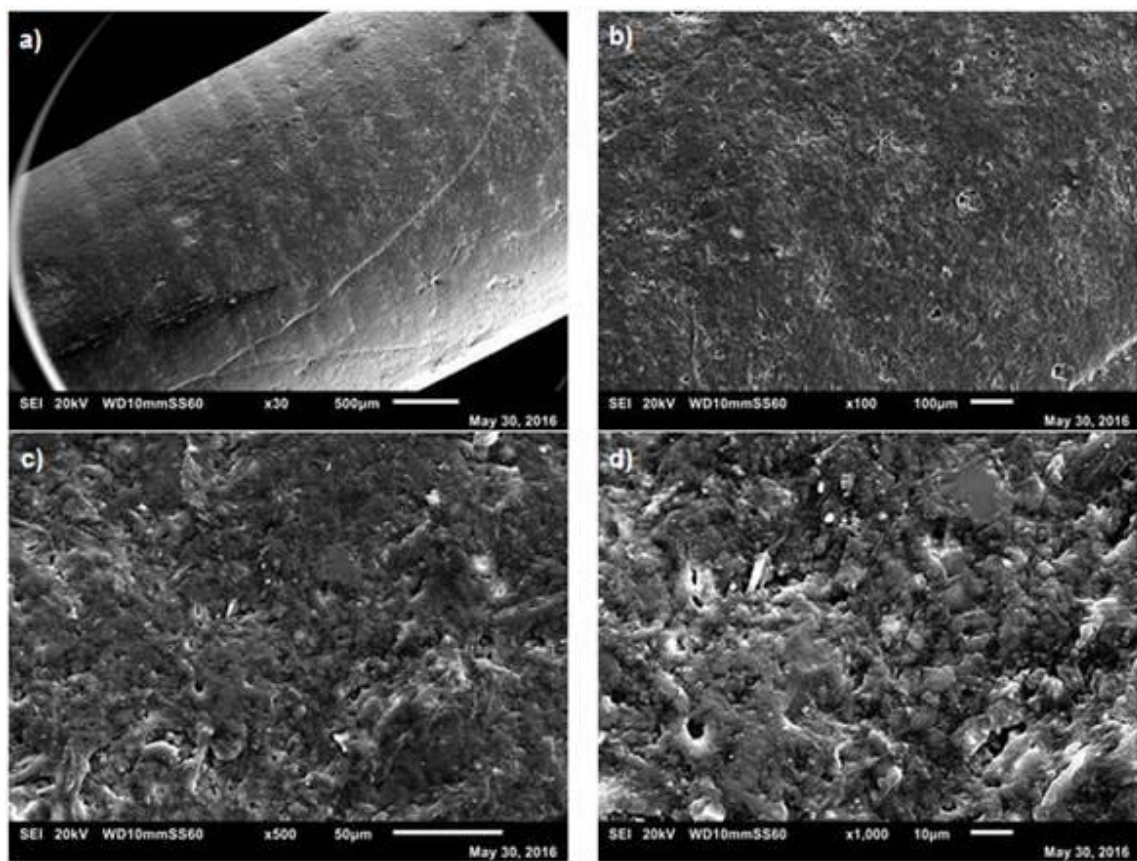


Figura 18. Superfície da barra de resina epóxi obtida por microscopia eletrônica de varredura (MEV) com detector *backscattered*, com ampliações de (a) 30, (b) 100, (c) 500 e (d) 1000 vezes

Foi constatada grande irregularidade na superfície da barra sortiva, o que acarreta um aumento da sua área superficial e provavelmente contribui para o processo de sorção dos analitos pelo aumento da disponibilidade dos sítios ativos.

A observação das barras por MEV com a utilização de um detector EDS possibilitou ainda a caracterização da superfície da barra sortiva com base nos principais elementos presentes na superfície, sendo que as imagens obtidas podem ser visualizadas na Figura 19.

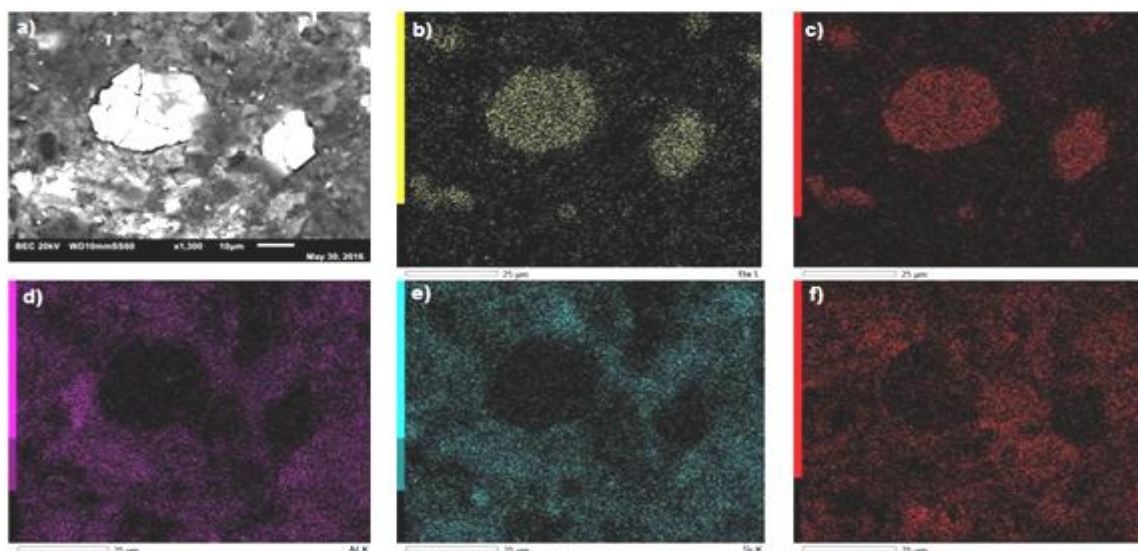
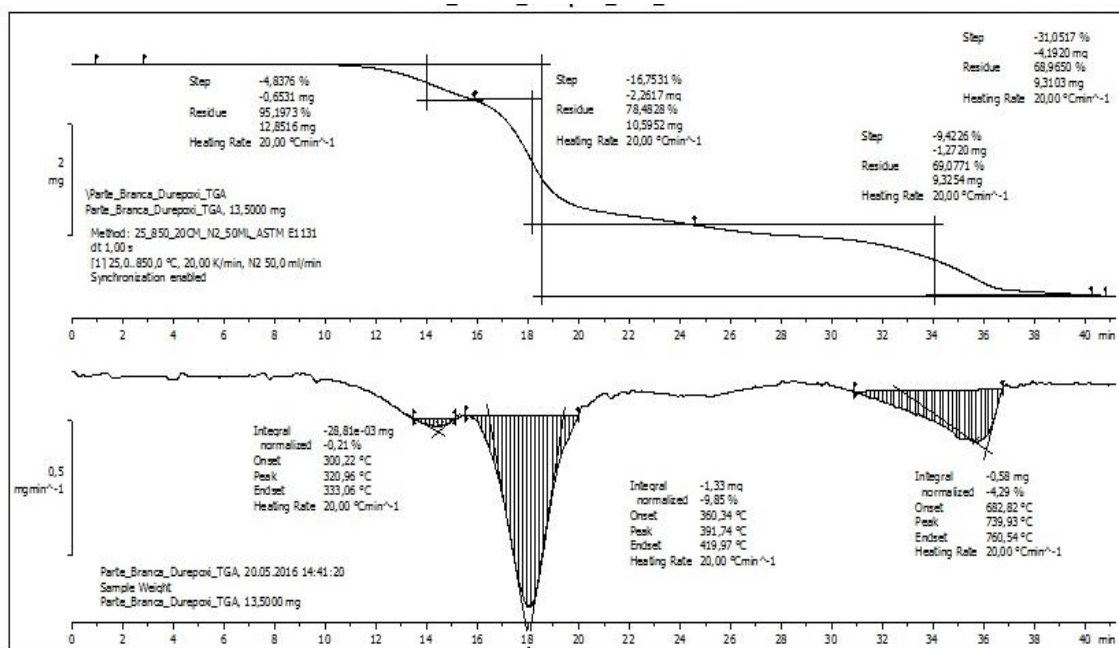


Figura 19. Imagens da superfície da barra de resina epóxi obtida por MEV com detector EDS. a) barra sortiva ampliada 1300 vezes; as demais imagens correspondem à identificação dos elementos: Ba (b), S (c), Al (d), Si (e) e C (f)

A caracterização da superfície das barras sortivas indicou a presença dos elementos alumínio, bário, carbono, enxofre, silício, sódio, oxigênio e potássio, indicando a presença de possíveis componentes inorgânicos e orgânicos, além de permitir a visualização de cristais de BaSO_4 . Estas informações fornecidas pela análise por MEV/EDS estão de acordo com a análise dos componentes inorgânicos realizada por ICP OES, na resina epóxi utilizada na confecção das barras, onde foi confirmada a presença dos elementos alumínio (5,40 %), bário (1,15 %), cálcio (4,87 %), enxofre (2,09 % expresso como SO_4^{2-}), estrôncio (0,12 %), ferro (0,12 %), magnésio (0,36 %) e titânio (0,42 %). A determinação da concentração de SiO_2 (15,98 %) obtida pela fluorização da resina também corrobora com as informações obtidas por MEV/EDS.

Além disso, a resina foi também avaliada por análise termogravimétrica (TGA) através do monitoramento da perda de massa entre 50 e 850 °C para os dois componentes da resina epóxi separadamente (a resina epóxi e o agente de cura). Esta técnica de caracterização fornece informações sobre a perda de massa dos materiais em função da temperatura. Os resultados obtidos são demonstrados na Figura 20.

a)



b)

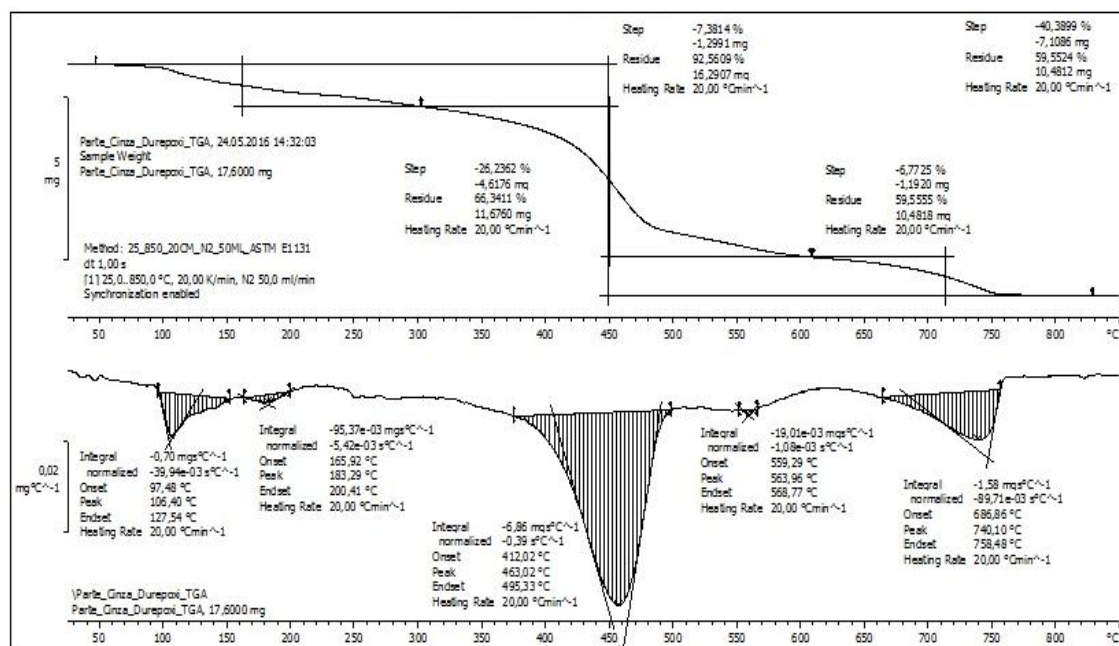


Figura 20. Análise termogravimétrica de 50 a 850 °C para os dois componentes do Durepóxi, sendo a) resina epóxi e b) agente de cura (endurecedor)

Os picos de perda de massa observados para os dois componentes da resina epóxi, com máximos em 740 °C são referentes aos componentes inorgânicos da resina. Estes componentes são oriundos de cargas presentes na sua composição, como por exemplo, possíveis alumino-silicatos de magnésio e cálcio (como bentonita e caulinita), óxidos, quartzo, talco, pigmentos, entre outros, sendo que sua presença pode

desempenhar efeito de sorção dos analitos, uma vez que alguns argilominerais (como a montmorilonita, caulinita e zeólitas modificadas) têm sido reportados na literatura como bons sorventes de TCS em estudos em batelada (Behera *et al.*, 2010, Lei *et al.*, 2013 e Liu *et al.*, 2014).

A análise por TGA também possibilitou a avaliação da fração orgânica da resina. Na Figura 20-a, que se refere à resina epóxi, é possível observar dois picos de perda de massa de 2,8 % e 18,2 %, em 321 e 392 °C, respectivamente. Já no agente de cura, a maior perda de massa foi observada em 463 °C, correspondendo a 26,2 % da massa da resina. Estas perdas de massa representam a volatilização de determinados componentes orgânicos da resina, e estão de acordo com as informações da FISPQ (2013), que informa que a composição da resina apresenta 20 a 30 % de resina epóxi, 20 a 30 % de resina poliamida (agente de cura) e 1 a 5 % de 2,4,6-trimetilaminometilfenol. Entretanto, informações mais específicas a respeito da composição das resinas utilizadas não são fornecidas pelo fabricante.

De acordo com Jin *et al.* (2015), a maioria das resinas epóxi é resultado da polimerização do bisfenol-a com epiclórídina, na presença de catalisadores para o processo de cura. A estrutura molecular do polímero formado nesta polimerização é representada na Figura 21:

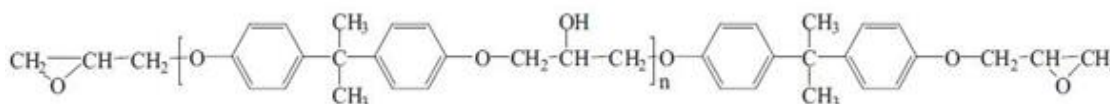


Figura 21. Estrutura molecular de resina epóxi resultante da polimerização do bisfenol-a com a epiclórídina – diglicidil eter de bisfenol-a (Fonte: adaptado de Jin *et al.*, 2015)

Embora este seja citado pelo autor como um dos polímeros mais utilizados na produção de resina epóxi, as comerciais podem variar na sua composição quanto ao tipo de polímero epóxi e os agentes de cura utilizados em função do uso pretendido.

Na busca de informações mais detalhadas sobre a composição dos polímeros presentes, a resina epóxi curada foi submetida à avaliação por infravermelho (FTIR) em pastilhas de KBr, sendo que o espectro obtido pode ser visualizado na Figura 22.

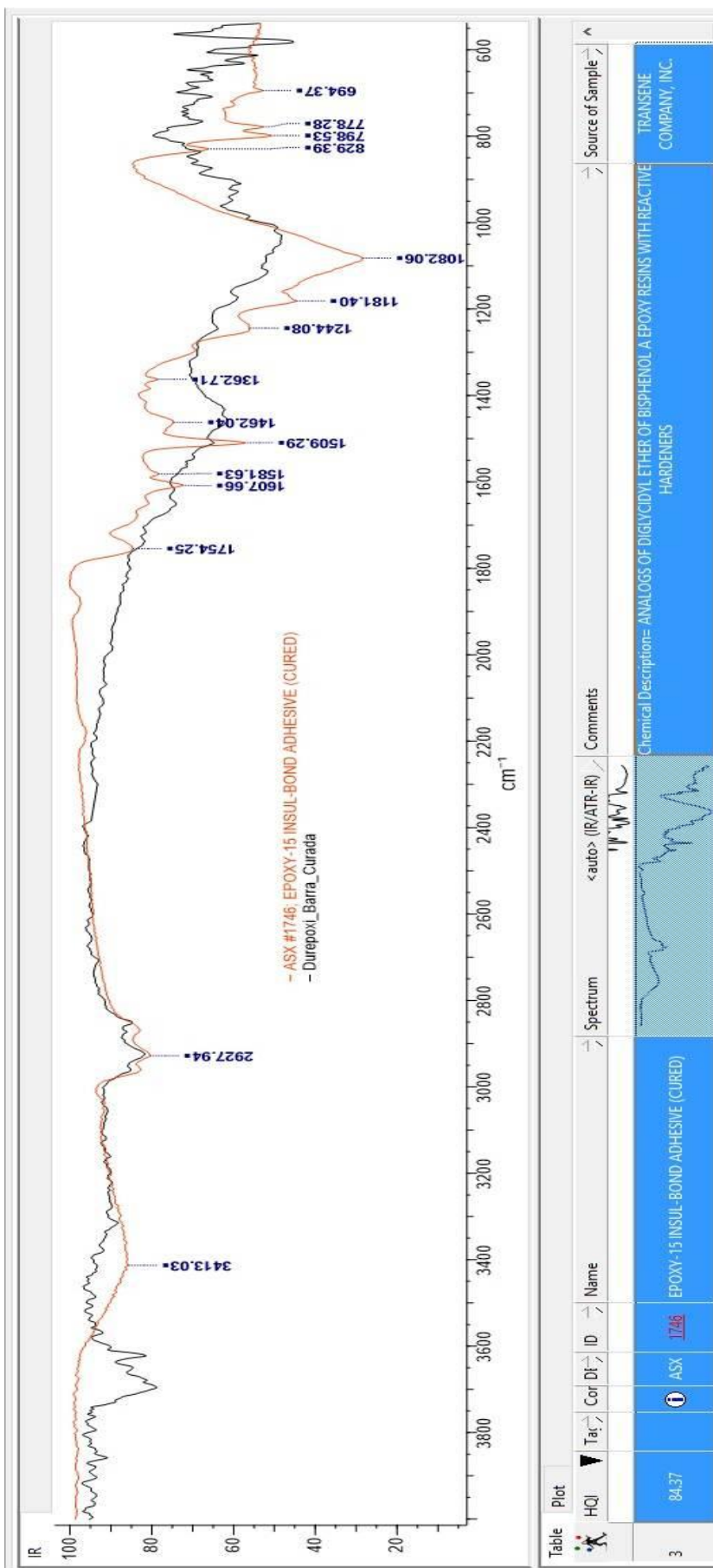


Figura 22. Espectros de infravermelho obtido para a resina de epóxi curada

A análise por FTIR apresentou as bandas características de diversos grupos funcionais dos componentes da resina, os quais podem exercer diversos mecanismos de interação com os analitos estudados. Com base na biblioteca de pesquisa do equipamento, a resina apresenta 84,4 % de compatibilidade com: “resina epóxi análoga a diglicidil éter de bisfenol-a com endurecedores reativos”, o que representa uma alta probabilidade de confirmação do polímero utilizado.

Estes polímeros orgânicos presentes nas resinas também podem desempenhar sorção dos analitos estudados com base em interações dipolo-dipolo, van der Waals, entre outros, possibilitando assim a transferência das espécies de interesse da solução para a superfície das barras sortivas.

Muitos dos componentes identificados, presentes na estrutura das barras sortivas de epóxi, podem contribuir para o efeito de sorção dos analitos, entretanto, os mecanismos de sorção desempenhados pelos componentes específicos não foram avaliados isoladamente neste trabalho.

5.9. Avaliação das condições analíticas de extração com as barras de epóxi

A fim de se estudar as melhores condições de trabalho para a extração de TCS e MTCS empregando as barras sortivas de epóxi, foram avaliadas isoladamente as variáveis pH, tempo de extração, volume de amostra, temperatura e força iônica. O parâmetro “velocidade de agitação”, embora considerado importante devido à influência no transporte de massa da solução para a superfície da barra e, conseqüentemente, no tempo necessário para se atingir o equilíbrio de extração (Lanças, 2009 e Borges *et al.*, 2015), não foi avaliado devido à ausência de agitadores magnéticos calibrados, de forma que este parâmetro foi mantido constante, em uma velocidade estimada de 700 rpm.

A partir desta etapa do desenvolvimento do trabalho, os experimentos foram realizados utilizando-se os dois analitos, TCS e o MTCS, concomitantemente.

Todas as replicatas dos ensaios realizados para avaliação de cada uma das condições analíticas foram realizadas em um único dia, a fim de se manter as mesmas condições analíticas. Para cada replicata foi utilizada uma barra diferente, de forma que os desvios encontrados também fornecem informações sobre a repetitividade do método como um todo.

Foram conduzidos experimentos para avaliação do efeito do pH na eficiência de transferência dos compostos TCS e MTCS das soluções para as barras de epóxi, uma vez que este fator pode afetar o equilíbrio de dissociação, tanto dos analitos como de possíveis componentes das barras sortivas. Uma diminuição do pH provoca aumento na

concentração de espécies neutras de compostos ácidos, o que pode aumentar a quantidade extraída (Lanças, 2009). Os resultados obtidos podem ser observados na Figura 23.

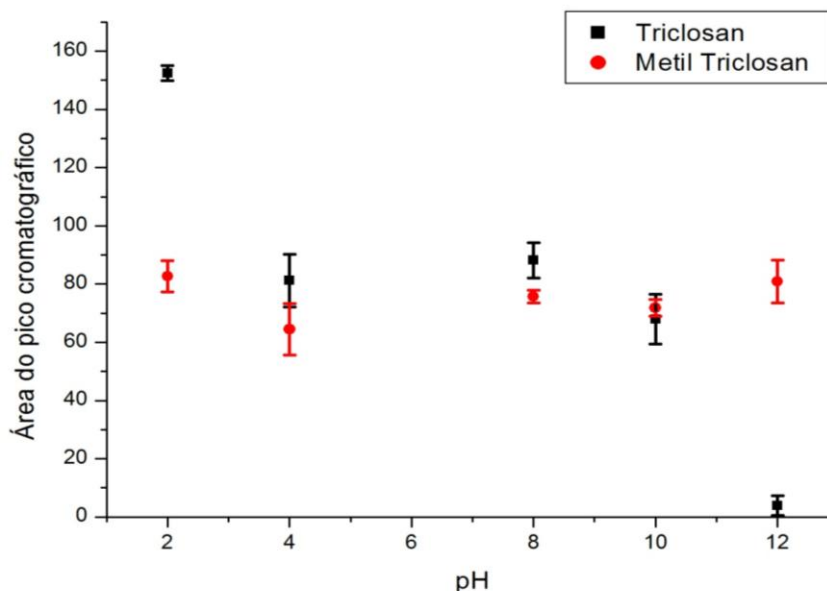


Figura 23. Influência do pH na eficiência de extração em soluções contendo $25,0 \mu\text{g L}^{-1}$ dos analitos, em $20,0 \text{ mL}$ de solução e tempo de extração de 60 min , $n = 3$

Para o composto MTCS, a eficiência de remoção foi constante em todos os valores de pH estudados, porém, para o TCS, foi observada variação significativa em valores de pH extremos. Um aumento significativo foi observado para as áreas dos picos cromatográficos do TCS em pH 2,0, e uma diminuição muito acentuada em pH 12, para o qual não foi observada a recuperação do TCS.

Embora em pH 2,0 tenha sido constatado a maior extração do TCS, observou-se também um aumento significativo na quantidade de picos cromatográficos, que podem ser atribuídos à decomposição do epóxi, decorrentes do ataque ácido. Este fato pode acarretar na diminuição da vida útil da barra sortiva bem como no comprometimento das condições cromatográficas devido a interferências químicas.

Desta forma, os valores de pH avaliados entre 4,0 e 10,0 foram considerados adequados para realização dos ensaios, sendo que os valores próximos da neutralidade, entre 6,0 e 8,0, foram utilizados nos ensaios subseqüentes.

Foi também avaliado o efeito do volume de amostra na eficiência de extração dos analitos, uma vez que menores volumes de solução tendem a facilitar o transporte de massa dos analitos da solução para a fase extratora (Borges *et al.*, 2015). Para isso, foram realizados experimentos de extração contendo uma massa fixa de $0,5 \mu\text{g}$ dos

analitos, em experimentos com volumes finais de solução variando entre 20 e 1000 mL, e os resultados obtidos são apresentados na Figura 24.

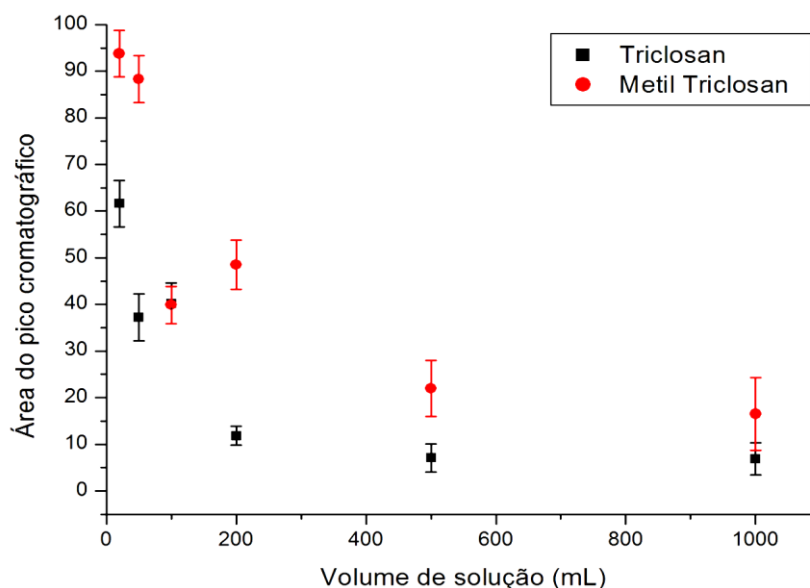


Figura 24. Avaliação do volume de solução na extração de TCS e MTCS em soluções contendo 0,5 μg dos analitos e tempo de extração de 60 min, $n = 3$

Constatou-se, com base no experimento, que quanto menor o volume de solução, melhor a eficiência de extração dos analitos, devido ao maior contato do composto com a fase sorvente.

Embora maiores volumes de solução possam fornecer maiores fatores de pré-concentração dos analitos, maiores tempos de extração podem ser necessários para atingir o equilíbrio de extração, condição esta que não foi avaliada neste trabalho. Desta forma, foi definido o volume de 20,0 mL de solução para utilização nos ensaios subsequentes.

Em seguida, foi determinado experimentalmente o tempo ideal de extração dos analitos pelas barras sortivas. Em geral, as técnicas de microextração em fase sólida não são exaustivas e, considerando-se ainda a extração dos analitos pelo processo de partição, a quantidade máxima de analitos será extraída quando o equilíbrio for estabelecido, de forma que a sensibilidade do método está diretamente ligada a este fator (Lanças, 2009).

O tempo de extração na recuperação de TCS e MTCS em soluções contendo 25 $\mu\text{g L}^{-1}$ foi avaliado entre 15 minutos e 8 horas de contato, e os resultados obtidos são apresentados na Figura 25.

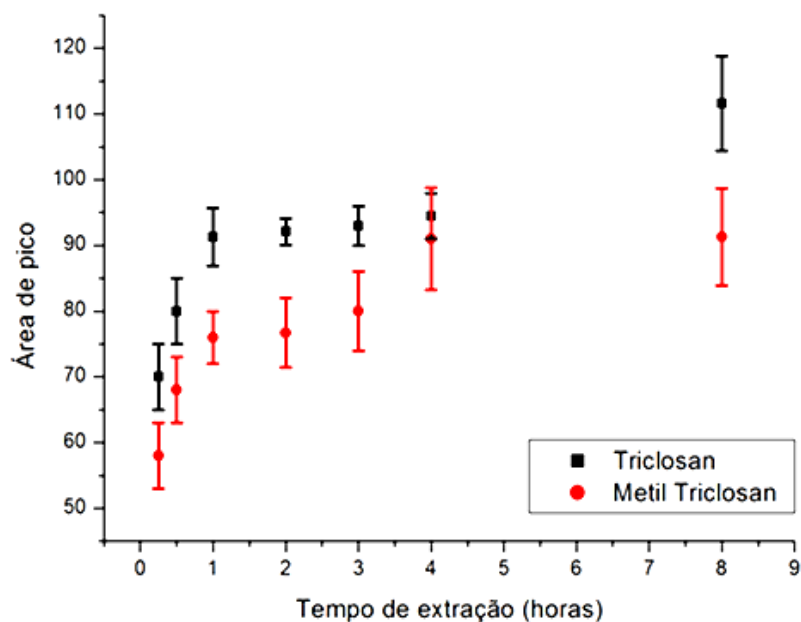


Figura 25. Avaliação da influência do tempo de extração na recuperação de TCS e MTCS em soluções contendo $25,0 \mu\text{g L}^{-1}$ dos analitos, em $20,0 \text{ mL}$ de solução, $n = 4$

De acordo com os resultados apresentados na Figura 25, foi observado que a eficiência da extração aumentou sensivelmente até o período de uma hora de extração e, a partir deste tempo, este aumento foi menos significativo para ambos os compostos. O período de uma hora de extração obtido com as barras de epóxi pode ser considerado baixo quando comparado à extração de triclosan por 10 horas utilizando-se PDMS como fase sorvente (Pintado-Herrera *et al.*, 2014). Este fato se deve ao processo de extração diferenciado entre as duas fases sorventes. O PDMS, sendo um líquido polimérico, extrai os compostos de uma solução por absorção, um processo que demanda maior tempo para o estabelecimento do equilíbrio. Já com as barras de epóxi, um polímero sólido, o processo de extração provavelmente ocorre por adsorção, um processo superficial, que demanda um menor tempo para o estabelecimento do equilíbrio.

Embora períodos de extração de até 24 horas sejam utilizados em métodos analíticos empregando a técnica de SBSE (Camino-Sanchez *et al.*, 2012), sob o ponto de vista analítico e prático, menor tempo de extração é mais adequado devido a razões como redução da co-extração de potenciais interferentes químicos, preservação da barras do desgaste mecânico e redução do tempo necessário para a execução do ensaio. Nesse sentido, optou-se pela utilização do período de uma hora para o desenvolvimento dos experimentos subsequentes. Este tempo de extração está de acordo com a faixa de tempo normalmente empregada por outros autores na

determinação de diversos analitos, conforme citado na revisão publicada por Prieto *et al.* (2010).

Na sequência, foi avaliado o efeito da força iônica do meio na sorção dos analitos. Para esta avaliação foram empregadas concentrações variadas de cloreto de sódio, e os resultados são dispostos graficamente, na Figura 26.

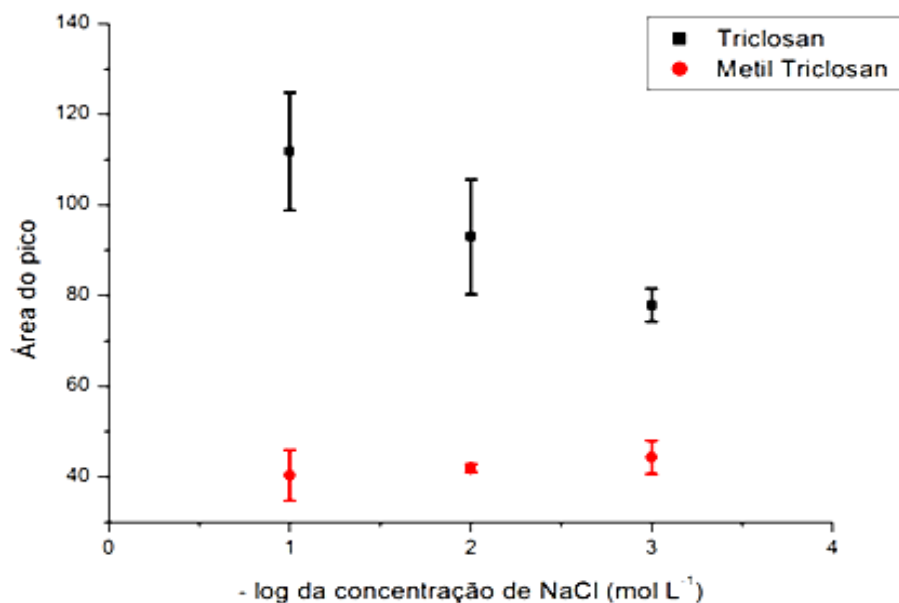


Figura 26. Influência da força iônica na recuperação de TCS e MTCS em soluções contendo 25,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ dos analitos, em 20,0 mL de solução e tempo de extração de 60 min, $n = 4$

Conforme pode ser observado na Figura 26, a eficiência de remoção foi mais significativa para o composto TCS na concentração de 0,10 mol L⁻¹ de NaCl, embora uma estimativa de desvio-padrão relativamente elevada tenha sido constatada. Por outro lado, não foi verificada variação significativa para o MTCS para as três forças iônicas avaliadas. Este fato pode ser atribuído à menor polaridade do MTCS, o que acarreta menor afinidade com a água e com os componentes polares presentes nas soluções aquosas.

Esta melhora na recuperação de TCS pode ser explicada pelo efeito “salting out”, onde a presença de um eletrólito forte torna o ambiente aquoso menos favorável para os analitos, reduzindo a sua solubilidade em amostras aquosas. Este efeito pode contribuir para aumentar a eficiência da extração de compostos orgânicos, em especial os mais polares, (Lanças, 2009), facilitando sua migração para a barra de extração.

A avaliação do efeito da temperatura na eficiência de extração dos analitos pelas barras sortivas também foi investigada, uma vez que este fator pode influenciar a solubilidade dos analitos no meio aquoso e, conseqüentemente, o processo de partição

entre as duas fases.

Para esta avaliação, foram confeccionados recipientes de vidro, os quais foram estabilizados em temperaturas entre 10 e 50 °C por circulação de água proveniente de banho termostático. Os recipientes foram acomodados sobre agitadores magnéticos onde as amostras contendo os analitos foram agitadas pelo período de uma hora. O sistema de estabilização da temperatura pode ser visualizado na Figura 27.

a)



b)



Figura 27. a) Recipientes térmicos acomodados sobre agitadores magnéticos; e b) banho termostático para ajuste da temperatura dos experimentos

Para a avaliação do efeito da temperatura na eficiência de extração dos analitos pelas barras sortivas, as amostras contendo os analitos foram estabilizadas nas temperaturas de 10,0, 20,0, 30,0, 40,0 e 50,0 °C, e mantidas sob agitação por uma hora

pelas barras sortivas de epóxi. Os resultados obtidos podem ser visualizados na Figura 28.

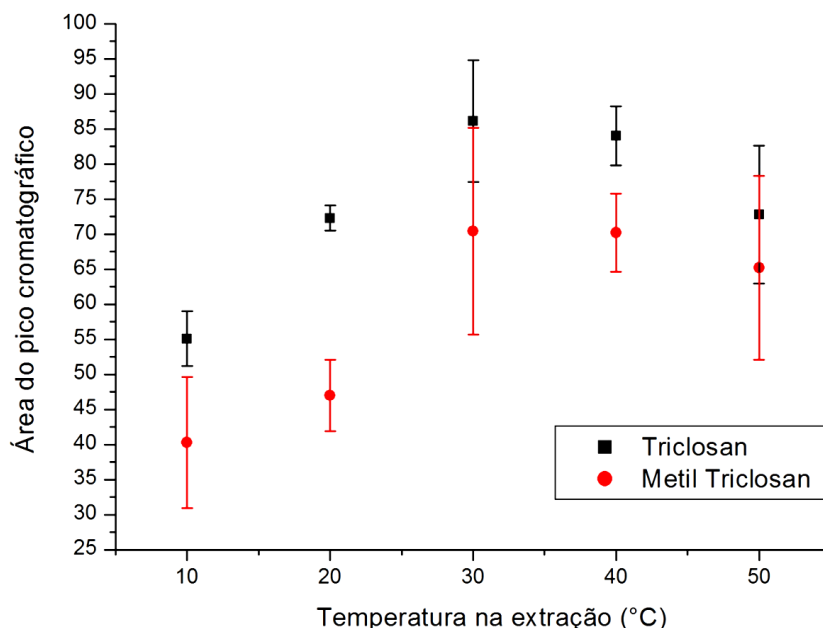


Figura 28. Influência da temperatura das amostras na extração de $25,0 \mu\text{g L}^{-1}$ de TCS e MTCS (20,0 mL). Tempo de extração de 60 min, $n=3$

Foi constatada uma melhora significativa na eficiência de sorção dos analitos entre 10 e 30 °C tanto para o TCS quanto para o MTCS, sendo que a partir de 30 °C observou-se uma leve queda da eficiência de extração de ambos compostos. De acordo com Lanças (2009), um aumento na temperatura promove um aumento da velocidade de extração, reduzindo o tempo necessário para atingir o equilíbrio de extração, entretanto, o aumento da temperatura favorece a solubilidade dos compostos no meio aquoso, fazendo com que a eficiência de extração diminua em altas temperaturas, como observado a partir de 30 °C.

Após a avaliação dos parâmetros experimentais, o procedimento de extração dos analitos pelas barras sortivas foi estabelecido, avaliado quanto aos parâmetros de mérito e empregado na extração dos analitos em amostras aquosas.

5.10. Avaliação dos parâmetros de mérito do método

Para a avaliação dos parâmetros de mérito, foram realizados experimentos de modo a demonstrar a eficiência do método como um todo, envolvendo a etapa preliminar de extração dos analitos pelas barras sortivas, seguida pela determinação cromatográfica dos mesmos.

Para a avaliação da linearidade do método, foram realizadas as extrações por SBSE das soluções padrão dos analitos TCS e MTCS. Os cromatogramas dos extratos obtidos podem ser visualizados na Figura 29.

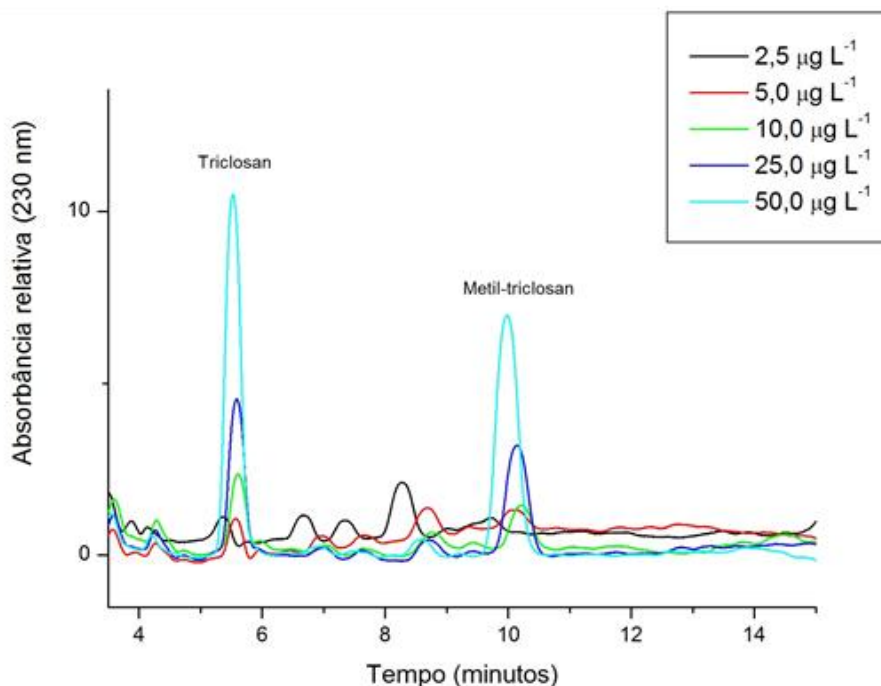


Figura 29. Cromatogramas sobrepostos da curva analítica para TCS e MTCS obtidos por SBSE no intervalo de 2,50 a 50,0 $\mu\text{g L}^{-1}$

Pode-se observar nos cromatogramas dos padrões analíticos, os picos dos padrões TCS, em aproximadamente 5,5 minutos, e do MTCS ao redor de 10,0 minutos. É possível observar também que os cromatogramas obtidos dos extratos por SBSE apresentaram diversos picos adicionais de compostos não identificados, em diversos tempos de retenção, que provavelmente são decorrentes da extração de componentes da resina epóxi pela acetonitrila, na etapa de dessorção dos analitos, já que os mesmos não foram observados nos cromatogramas de padrões que não foram submetidos às extrações.

Entretanto, a intensidade dos picos destes compostos co-extraídos diminui em utilizações subsequentes da mesma barra sortiva, sem apresentar alteração na eficiência analítica da barra, demonstrando que a mesma vem sendo condicionada com o uso. Além disso, estes compostos não são eluídos no mesmo tempo de retenção dos padrões analíticos, de forma que não causam interferência na sua determinação.

Com base nas áreas de pico obtidas pelos cromatogramas da Figura 29, foram elaboradas curvas analíticas de TCS e MTCS de acordo com a Figura 30.

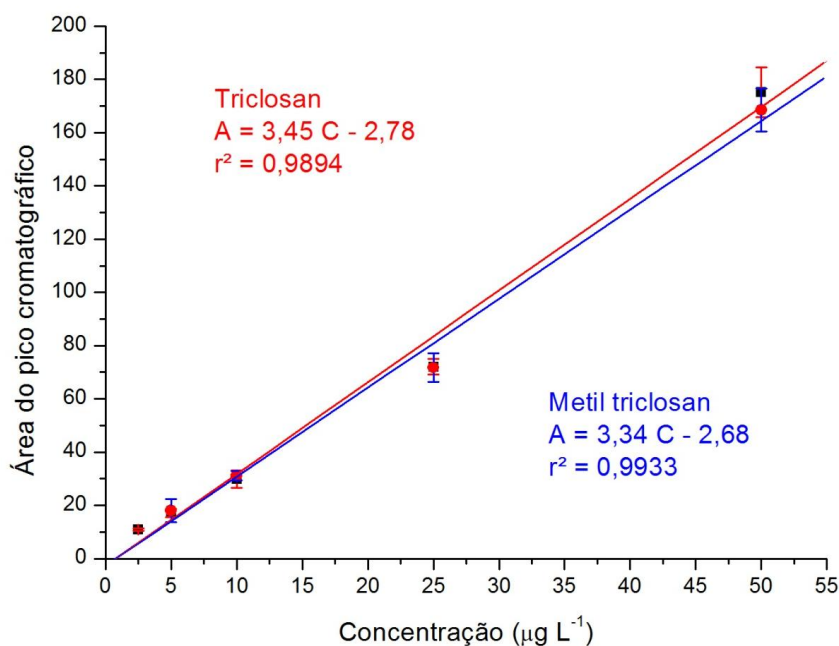


Figura 30. Curvas analíticas obtidas por extração com barras sortivas de epóxi para TCS e MTCS no intervalo de 2,50 a 50,0 $\mu\text{g L}^{-1}$. As barras correspondem às estimativas de desvios padrão de triplicatas

A faixa linear de trabalho utilizada foi de 2,50 a 50,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ para ambos os analitos, sendo obtidos coeficientes de determinação de 0,9894 e 0,9933 para TCS e MTCS, respectivamente. Os valores obtidos de LOD foram 0,8 e 1,5 $\mu\text{g L}^{-1}$, e LOQ de 2,5 e 5,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ para TCS e MTCS, respectivamente, definidos pela razão entre o sinal e o ruído dos cromatogramas (S/R). Concentrações mais baixas dos analitos não foram avaliadas em função do sistema de detecção utilizado (DAD), não permitir uma adequada integração dos picos, embora a etapa de extração tenha demonstrado eficiência satisfatória para as concentrações mais baixas utilizadas.

Os valores de LOD do método obtidos neste trabalho podem ser comparados com os obtidos por outros autores, pela utilização das técnicas instrumentais LC-DAD e GC-MS, conforme apresentado na Tabela 8.

Tabela 8. Comparação entre métodos analíticos apresentados na literatura

Analito	Matriz	Volume de amostra	Tempo de extração	Técnica	LOD	Referência
TCS	Águas e efluente	20 mL	60 min	LC-DAD	0,8 $\mu\text{g L}^{-1}$	Este trabalho
MTCS					1,5 $\mu\text{g L}^{-1}$	
TCS	Saliva, creme dental	1 mL 25 mL	120 min	LC-DAD	0,1 $\mu\text{g L}^{-1}$	Silva e Nogueira (2008)
TCS	Águas	100 mL	10 horas	GC-MS	5 ng L^{-1}	Pintado-Herrera <i>et al.</i> (2014)
MTCS					1 ng L^{-1}	
TCS	Urina	1 mL	60 min	GC-MS (DT)	0,05 $\mu\text{g L}^{-1}$	Kawaguchi <i>et al.</i> (2008)
TCS	Águas de rio	10 mL	120 min	GC-MS	5 ng L^{-1}	Kawaguchi <i>et al.</i> (2008)

DT: dessorção térmica

O valor de LOD obtido para o TCS foi oito vezes maior do que o apresentado por Silva e Nogueira (2008) para saliva, que também utilizou um detector DAD, embora neste trabalho o tempo de extração utilizado tenha sido 50 % menor. Desta forma, como pode ser observado na Figura 25, maiores tempo de extração favorecem a obtenção de maiores níveis de recuperação dos analitos, o que deve contribuir para a diminuição do LOD obtido. Entretanto, este efeito não foi avaliado neste trabalho.

Pelo emprego de GC-MS, os autores obtiveram limites significativamente menores, tanto para TCS quanto para MTCS do que os que utilizaram outros tipos de detectores. Neste sentido, pode-se afirmar que o LOD obtido neste trabalho foi fortemente influenciado pela sensibilidade da técnica de determinação utilizada.

Convém salientar que os autores citados utilizaram barras sortivas comerciais recobertas com PDMS, que consiste na fase sorvente mais difundida comercialmente, com eficiência de extração consolidada para diversos compostos.

Além disso, os mecanismos de remoção dos analitos diferem entre os dois sorventes em função de o PDMS ser um líquido polimérico, que necessita de maior tempo para atingir o equilíbrio de extração do que a resina epóxi. Isto acontece pelo fato de que o PDMS interage com os analitos pelos mecanismos de absorção e partição, até que se atinja o valor de uma constante de distribuição, similar ao coeficiente de partição octanol/água (K_{ow}) (Mitra, 2003). Quanto maior o volume de PDMS usado em uma barra sortiva, maior tempo será requerido para que se atinja o equilíbrio, porque uma maior

massa de analito será transferida para a fase sorvente. Desta forma, o PDMS pode fornecer melhores limites de quantificação, embora necessite de maior tempo de extração.

A avaliação da precisão e da exatidão do método foi realizada a partir de ensaios de repetitividade em matriz água deionizada, sendo sete replicatas para cada faixa de concentração. Os resultados obtidos são apresentados na Tabela 9, juntamente com os demais parâmetros de mérito.

Tabela 9. Parâmetros de mérito para a determinação de TCS e MTCS em água deionizada com barras sortivas de resina epóxi

Parâmetro			TCS	MTCS
Limites de Detecção			0,8 $\mu\text{g L}^{-1}$	1,5 $\mu\text{g L}^{-1}$
Limites de Quantificação			2,5 $\mu\text{g L}^{-1}$	5,0 $\mu\text{g L}^{-1}$
Linearidade entre 2,5 e 50,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ (r^2)			0,9894	0,9933
Repetitividade (n: 7)	10,0 $\mu\text{g L}^{-1}$	Exatidão	121,6 %	101,4 %
		Precisão	40,9 %	25,9 %
	20,0 $\mu\text{g L}^{-1}$	Exatidão	104,5 %	116,2 %
		Precisão	12,1 %	18,0 %
	50,0 $\mu\text{g L}^{-1}$	Exatidão	100,4 %	104,6 %
		Precisão	6,6 %	7,0 %

A quantificação dos analitos nos extratos estudados foi realizada por interpolação na curva analítica obtida pelo mesmo método de extração SBSE. Para o TCS, foram obtidas recuperações entre e 100,4 e 121,6 %, e para o MTCS entre 101,4 e 116,2 %.

Os valores de coeficiente de variação encontrados foram de 6,6 a 7,0 % para concentrações de 50,0 $\mu\text{g L}^{-1}$, e chegaram a 40,9 % para concentrações de 10,0 $\mu\text{g L}^{-1}$. Esses resultados sugerem uma adequada precisão para a faixa de concentração estudada, avaliando-se o método como um todo, considerando as extrações dos analitos em nível de traço pelas barras sortivas, dessorção com solventes orgânicos e a determinação cromatográfica. Para a avaliação da precisão deste método analítico desenvolvido, foram seguidas as orientações da trombeta de Horwitz, que relaciona o coeficiente de variação percentual em função da concentração dos analitos, conforme representado na Figura 31.

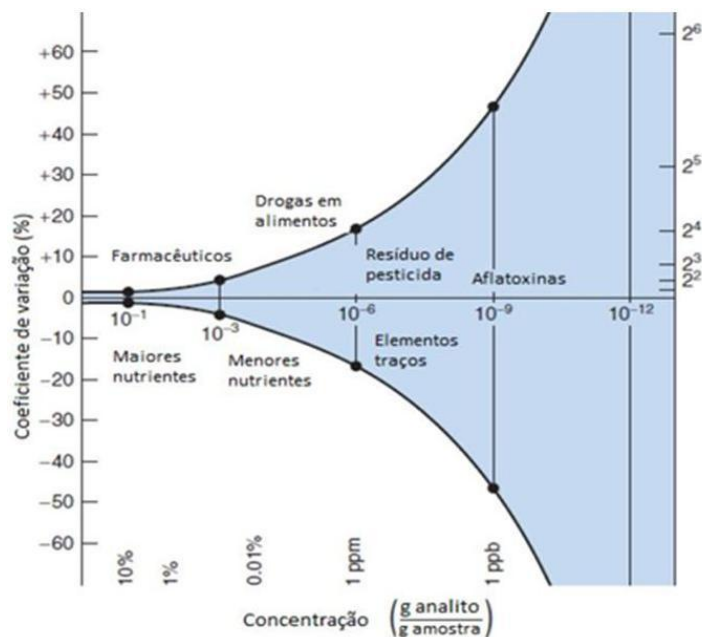


Figura 31. Trombeta de Horwitz (Fonte: Harris, 2012)

A trombeta orienta que para quanto menor a concentração dos analitos determinados, maiores são os valores esperados para os coeficientes de variação percentuais de ensaios de reprodutibilidade, observados em comparações interlaboratoriais (Harris, 2012). Este fato se aplica independentemente da técnica analítica utilizada ou do analito, embora alguns métodos possuam uma melhor precisão inerente. Segundo a trombeta, quando a concentração de um analito é 1 mg L^{-1} , o coeficiente de variação esperado é de até 16 %, e quando a concentração é de $1 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$, o coeficiente de variação máximo esperado sobe para 45 %.

Cabe salientar que durante toda a avaliação do desempenho das barras sortivas, inclusive na avaliação dos parâmetros de mérito, foram utilizadas apenas 8 barras sortivas, de grande similaridade entre si devido ao fato de terem sido confeccionadas com o mesmo molde. Durante a avaliação de n replicatas de um mesmo ensaio, realizados paralelamente, foram utilizadas 8 barras de agitação similares entre si, e não apenas uma única barra, o que permite inferir que o método desenvolvido apresenta boa reprodutibilidade.

A grande estabilidade das barras sortivas de epóxi observadas frente às agitações mecânicas e às etapas de dessorção com solvente orgânico realizadas em banho de ultrassom, permitiu mais de 40 utilizações de cada barra durante o desenvolvimento do trabalho, sem demonstrar degradação ou perda do desempenho, mas uma melhora no seu condicionamento foi observada em utilizações subsequentes. Além disso, o armazenamento das barras foi realizado por imersão constante em

acetonitrila, pelo período de mais de um ano desde a sua confecção e até a finalização deste trabalho, o que também promoveu a fácil eliminação de impurezas antes de cada nova utilização. Todos estes fatos representam informações importantes a respeito da robustez do método desenvolvido.

5.11. Determinação de TCS e MTCS em amostras reais

Para a verificação da aplicação do método e influência de potenciais interferentes, foram analisados os compostos TCS e MTCS nas seguintes matrizes de diferentes complexidades: água deionizada, água tratada (da rede pública de abastecimento de Curitiba / PR), água mineral (classificação alcalino terrosa e fluoretada), água do Rio Iguaçu e do Rio Barigui *in natura* e efluente sanitário bruto. Todas as amostras apresentavam pH entre 5,5 e 8,3, de forma que não foi necessário ajuste de pH para as extrações com as barras sortivas.

As amostras foram submetidas à extração por SBSE sem tratamentos prévios, e os analitos foram posteriormente recuperados das barras sortivas por dessorção com acetonitrila. Os extratos obtidos foram analisados por LC-DAD e não foi constatada, em nenhuma das matrizes avaliadas, a presença de TCS nem de MTCS no nível dos limites de quantificação do método.

Posteriormente, as mesmas matrizes foram fortificadas com $25,0 \mu\text{g L}^{-1}$ dos analitos e submetidas ao procedimento de extração para avaliação da recuperação percentual dos analitos adicionados, e os resultados obtidos são apresentados na Figura 32.

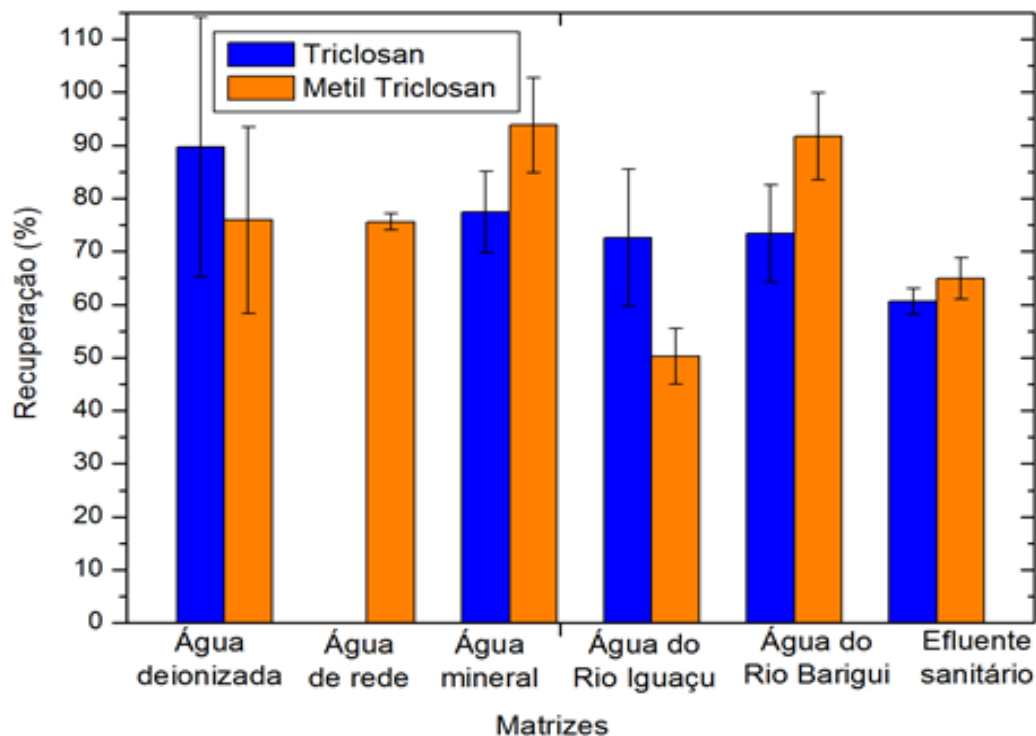


Figura 32. Recuperações percentuais de TCS e MTCS nas matrizes aquosas fortificadas com $25,0 \mu\text{g L}^{-1}$ dos analitos, $n = 3$

Para o composto MTCS, foram obtidas recuperações entre 50,3 e 93,8 % nas matrizes avaliadas, e para o composto TCS, valores entre 60,6 e 89,7 % foram verificados, exceto para a matriz de água tratada, onde o sinal analítico do composto ficou abaixo do LOQ do método.

A ausência do TCS no extrato obtido da matriz de água tratada, provavelmente ocorreu devido à sua decomposição em decorrência da presença de cloro livre, conhecido por ser amplamente utilizado como sanitizante em estações de tratamento de águas e efluentes. O TCS está suscetível a reagir com cloro livre formando metabólitos clorados, devido ao efeito ativador do grupo $-\text{OH}$ ligado ao anel aromático, o que está de acordo com os mecanismos de cloração sugeridos por Buth *et al.* (2009), apresentados anteriormente. Por outro lado, o MTCS está menos susceptível à cloração devido à presença do grupo metila, que torna o anel aromático da molécula mais resistente às reações nucleofílicas (Solomons, 2000).

Embora em todas as matrizes analisadas tenha sido possível a recuperação dos analitos (exceto para o TCS na matriz água de rede), é possível constatar uma dependência na recuperação percentual em função da complexidade das amostras. Desta forma, pode ser necessária a determinação da recuperação em uma determinada

matriz, ou o uso de alguma técnica analítica que possa amenizar os efeitos das matrizes das amostras, como por exemplo, a técnica de adição de padrão ou a técnica de adição de padrão interno. De modo geral, o método se mostrou adequado para a quantificação de TCS e MTCS, em níveis de traço, em matrizes aquosas ambientais.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS E CONCLUSÕES

As barras de epóxi apresentaram as características necessárias para utilização como barras sortivas na extração de TCS e MTCS em amostras de águas e efluentes, como a capacidade de sorção dos analitos estudados e a dessorção completa dos mesmos após contato com o solvente apropriado. A grande estabilidade frente às agitações mecânicas e às etapas de dessorção com solvente permitiu mais de 40 utilizações de cada barra durante o desenvolvimento do trabalho, sem demonstrar degradação ou perda do desempenho, mas uma melhora no seu condicionamento foi observada em utilizações subsequentes.

Ao contrário dos sorventes analíticos e das barras sortivas disponíveis comercialmente, que são de custo elevado, o baixo custo da resina epóxi permitiu a confecção de diversas barras em série, colaborando para a agilidade dos procedimentos analíticos rotineiros. Além disso, tanto o armazenamento quanto o acondicionamento das barras foi facilmente realizado pela imersão em acetonitrila.

A resina epóxi permitiu ainda a fixação de sorventes em sua superfície para a confecção de barras sortivas, conforme realizado com o sorvente C18 neste trabalho, após constatação da grande afinidade entre o C18 e os analitos estudados. Esta característica possibilita a avaliação de diversos sorventes em extrações por SBSE, para a sorção de analitos que não apresentem afinidade à resina. Embora neste trabalho a fase C18 tenha demonstrado eficiência na sorção dos analitos estudados, e a sua fixação na superfície das barras de epóxi tenha sido satisfatória, a competição na sorção pelos analitos estudados entre a resina epóxi e o C18 impediu a obtenção de resultados claros dos efeitos de sorção individuais. A utilização das resinas epóxi como barras sortivas não foi verificada na literatura correlata até o momento. Esta novidade analítica agrega nova funcionalidade a estes materiais, e abre novas possibilidades de estudo nesta linha de pesquisa. Os ensaios de caracterização da resina permitiram constatar a presença de diversos elementos e grupos funcionais em sua composição, os quais podem exercer diversos mecanismos de interação com os analitos estudados.

Os resultados obtidos demonstraram eficiência similar às barras sortivas comerciais de PDMS para a pré-concentração de TCS e de MTCS, com recuperações entre de 100 e 122 % em níveis de concentração de 10,0 e 50,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ em ensaios de recuperação. Para o limite de quantificação, houve uma limitação imposta pela técnica de determinação utilizada (LC-DAD), o que pode ser contornado pelo uso de técnicas de melhor detectabilidade, visto que a recuperação dos analitos pelas barras sortivas foi muito eficiente para as menores concentrações estudadas.

Esse estudo, além de contribuir para a avaliação da ocorrência de TCS e MTCS

nas amostras de águas e efluentes na região de Curitiba, também fornece subsídios para avaliações posteriores de demais compostos orgânicos; visto que o epóxi, muito provavelmente, deve apresentar características favoráveis para a extração de muitas outras moléculas de interesse ambiental por SBSE.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- APHA – AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. Standard Methods For The Examination Of Water And Wastewater, 22^a edição, 2012.
- ANDRADE, I. P.; FARDIN, R. F.; XAVIER, K, B, C.; NUNES, A. P. F. Concentração inibitória mínima de antissépticos bucais em micro-organismos da cavidade oral. **Rev Bras de Pesq Saúde**, 13 (3): 10-16, 2011.
- ANGER, C.T.; SUEPER, S.; BLUMENTRITT, D. J.; MCNEILL, K.; ENGSTROM, D.R.; ARNOLD, W.A. Quantification of triclosan, chlorinated triclosan derivatives, and their dioxin photoproducts in lacustrine sediment cores. **Environ Sci Technol**, 47: 1833–1843, 2013.
- ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada – RDC 29/2012, de 01/06/2012 – Lista de substâncias de ação conservante permitidas para produtos de higiene pessoal.
- AUFIERO, M.; BUTLER, C.; JASER, J. Analysis of Methods for Detecting Triclosan and Removal of Triclosan from Water Using Activated Carbon and Zeolites. Worcester Polytechnic Institute, Worcester, MA, 26/04/2012.
- BAIRD, C.; CANN, M. Química Ambiental. 4^a ed. **Editora Bookman**, 2011.
- BANIHASHEMI, B.; DROSTE, R. Sorption- desorption and biosorption of bisphenol A, triclosan and 17 a-ethinylestradiol to sewage sludge. **Sci Total Environ**, 487: 813-821, 2014.
- BALTUSSEN, E.; SANDRA, P.; DAVID, F.; CRAMERS, C. Stir bar sorptive extraction (SBSE), a novel extraction technique for aqueous samples: Theory and principles. **J Microcolumn Sep**, 11: 737-747, 1999.
- BARROS, B. N; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. Como Fazer Experimentos – Pesquisa e Desenvolvimento na Ciência e na Indústria. Campinas – SP: **Editora UNICAMP**, 2001.
- BEHERA S. K.; OH, S. Y.; PARK, H. S. Sorption of triclosan onto activated carbon, kaolinite and montmorillonite: Effects of pH, ionic strength, and humic acid. **J Hazard Mat**, 179: 684–691, 2010.
- BOXALL, A.B.A.; RUDD, M. A.; BROOKS, B. W.; CALDWELL, D.J.; CHOI, K.; HICKMANN, S.; INNES, E.; OSTAPYK, K.; STAVELEY, J. P.; VERSLYCKE, T.; ANKLEY, G. T.; BEAZLEY, K. F.; BELANGER, S. E.; BERNINGER, J. P.; CARRIQUIRIBORDE, P.; COORS, A.; DELEO, P. C.; DYER, S. C.; ERICSON, J. F.;

- GAGNÉ, F.; GIESY, J. P.; GOUIN, T.; HALLSTROM, L.; KARLSSON, M. V.; LARSSON, D. G. J.; LAZORCHAK, J. M.; MASTROCCO, F.; MCLAUGHLIN, A.; MCMASTER, M. E.; MEYERHOFF, R. D.; MOORE, R.; PARROTT, J. L.; SNAPE, J. R.; MURRAY-SMITH, R.; SERVOS, M. R.; SIBLEY, P. K.; STRAUB, J. O.; SZABO, N. D.; TOPP, E.; TETREAU, G. R.; TRUDEAU, V. L.; KRAAK, G. V. D. Pharmaceuticals and personal care products in the environment: What are the big questions?. **Environ Health Persp**, 120, n. 9, p. 1221-1229, 2012.
- BORGES, K. B.; FIGUEIREDO, E. C.; QUEIROZ, M. E. C. Preparo de amostras para análise de compostos orgânicos. **Editora LTC**, Rio de Janeiro, 2015.
- BUTH, J.M.; GRANDBOIS, M.; VIKESLAND, P.J.; MCNEILL, K.; ARNOLD, W.A. Aquatic photochemistry of chlorinated triclosan derivatives: potential source of polychlorodibenzo-p-dioxins. **Environ Toxicol Chem**, 28, n. 12: 2555-2563, 2009.
- BUTH, J. M.; STEEN, P. O.; SUEPER, C.; BLUMENTRITT, D.; VIKESLAND, P. J.; ARNOLD, W. A.; MCNEILL, K. Dioxin photoproducts of triclosan and its chlorinated derivatives in sediment cores. **Environ Sci Technol**, 44, 4545-4551, 2010.
- CAMINO-SÁNCHEZ, F.J.; ZAFRA-GÓMEZ, A.; OLIVER-RODRÍGUEZ, B.; RUIZ-NARANJO, I. RUIZ- GARCÍA, J.; VÍLCHEZ, J. L. Validation of a method for the determination of tributyltin in seawater by stir bar sorptive extraction-liquid chromatography tandem mass spectrometry. **Talanta**, 89: 322-334, 2012.
- CANOSA, P., RODRÍGUEZ, I., RUBÍ, E., RAMIL, M., CELA, R. Simplified sample preparation method for triclosan and methyltriclosan determination in biota and foodstuff samples. **J Chromatogr A**, 1188:132 – 139, 2008.
- CHAVES, A. R.; QUEIROZ, M. E. C. Extração sortiva em barra de agitação para análise de fármacos em fluidos biológicos. **Quim Nova**, 31: nº 7, 2008.
- CHEREDNICHENKO, G.; ZHANG, R.; BANNISTER, R. A.; TIMOFEYEV, V.; LI, N.; FRITSCH, E. B.; FENG, W.; BARRIENTOS, G. C.; SCHEBB, N. H.; HAMMOCK, B. D.; BEAM, K. G.; CHIAMVIMONVAT, N.; PESSAH, I. N. Triclosan impairs excitation–contraction coupling and Ca²⁺ dynamics in striated muscle. **P Natl Acad Sci USA**, 109:14158–14163, 2012.
- CONAMA – Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução 396/2008, de 03/04/2008 – Enquadramento das águas subterrâneas.
- CONAMA – Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução 357/2005, de 17/03/2005 – Classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento.

- CONAMA – Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução 430/2011, de 16/05/2011 – Condições e padrões de lançamento de efluentes.
- FAIR, P.A.; LEE, H.B.; ADAMS, J.; DARLING, C.; PACEPAVICIUS, G.; ALAEE, M.; BOSSART, G. D.; HENRY, N.; MUIR, D. Occurrence of triclosan in plasma of wild Atlantic bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) and in their environment. **Environ Pollut**, 157: n. 8-9, 2248-2254, 2009.
- FDA – United States Food and Drug Administration. FDA issues final rule on safety and effectiveness of antibacterial soaps. Disponível em <<http://www.fda.gov/NewsEvents/Newsroom/PressAnnouncements/ucm517478.htm>>. Acessado em 09/2016.
- FISPQ – Ficha de informações de segurança de produtos químicos. Produto: Loctite durepóxi massa. FISPQ nº 34-14-10, 23/01/13. Henkel Ltda.
- GARCIA, A. J. C.; Metodologia analítica para quantificação de triclosan e clorofenóis por cromatografia a líquido de alta eficiência (HPLC) e cromatografia por injeção sequencial (SIC) com uso de coluna monolítica e empacotada. Tese de doutorado, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.
- GERSTEL, disponível em: http://www.gerstel.com/en/Supplies_Twister_en.htm#Twister_10_mm, acessado em 08/2016.
- GUITART, C.; READMAN, J.W. Critical evaluation of the determination of pharmaceuticals, personal care products, phenolic endocrine disruptors and fecal steroids by GC-MS and PTV/GC-MS in environmental waters. *Anal Chim Acta*, 658: n. 1, 32-40, 2010.
- HAGGARD, D. E.; NOYES, P. D.; WATERS, K. M.; TANGUAY, R.L. Phenotypically anchored transcriptome profiling of developmental exposure to the antimicrobial agent, triclosan, reveals hepatotoxicity in embryonic zebrafish. **Toxicol Appl Pharm**, 308: 32-45, 2016
- HAN, C.; LIM, Y.-H.; HONG, Y.-C. Ten-year trends in urinary concentrations of triclosan and benzophenone-3 in the general U.S. population from 2003 to 2012. **Environ Pollut**, 208: 803-810, 2016.
- HARRIS, D. C. Análise Química Quantitativa. **Editora LTC**, 8ª edição, 2012.
- HONTELA, A.; HABIBI, H. R. 8 – Personal Care Products in the Aquatic Environment: A Case Study on the Effects of Triclosan in Fish. **Fish Physiology**, 33: 411-437, 2013.
- IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Atlas de saneamento 2011 – Abrangência dos serviços de saneamento. Disponível em

<http://biblioteca.ibge.gov.br/index.php/biblioteca-atologo?view=detalhes&id=253096>.
Acessado em 09/2016.

INMETRO – Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia. Orientação sobre validação de métodos analíticos - DOQ-CGCRE-008, revisão 05, 2016.

JÁLOVÁ, V.; JAROŠOVÁ, B.; BLÁHA, L.; GIESY, J.P.; OCELKA, T.; GRABIC, R.; JURČÍKOVÁ, J.; VRANA, B.; HILSCHEROVÁ, K. Estrogen-, androgen- and aryl hydrocarbon receptor mediated activities in passive and composite samples from municipal waste and surface waters. **Environ Int**, 59: 372–383, 2013.

JIN, F. L.; LI, X.; PARK, S. J. Synthesis and application of epoxy resins: A review. **J Ind Eng Chem**, 29: 1–11, 2015.

KATZ, D.R.; CANTWELL, M.G.; SULLIVAN, J.C.; PERRON, M.M.; BURGESS, R.M.; HO, K.T.; CHARPENTIER, M.A. Factors regulating the accumulation and spatial distribution of the emerging contaminant triclosan in the sediments of an urbanized estuary: Greenwich Bay, Rhode Island, USA. **Sci Total Environ.**, 443: 123-133, 2013.

KAWAGUCHI, M.; ITO, R.; HONDA H.; ENDO N.; OKANOUCI, N.; SAITO, K.; SETO, Y.; NAKAZAWA, H. Determination of urinary triclosan by stir bar sorptive extraction and thermal desorption–gas chromatography–mass spectrometry. **J Chromatogr B**, 875: 577–580, 2008.

LANÇAS, F.M. Cromatografia líquida moderna HPLC / CLAE. **Editora átomo**, Campinas – SP, 2009.

LANÇAS, F.M. Extração em Fase Sólida (SPE). **Editora RiMa**, São Carlos – SP, 2004.

LEI, C.; HU, Y.; HE, M. Adsorption characteristics of triclosan from aqueous solution onto cetylpyridinium bromide (CPB) modified zeolites. **Chem Eng J**, 219: 361–370, 2013.

LIU B.; Lu, J.; XIE, Y.; YANG, B.; WANG, X.; SUN, R. Microwave-assisted modification on montmorillonite with estercontaining Gemini surfactant and its adsorption behavior for triclosan. **J Colloid Interf Sci**, 418: 311–316, 2014.

LUMBRERAS, R. G.; LANDALUZE, J. S.; CÁMARA, C. Analytical performance of two miniaturised extraction methods for triclosan and metyltriclosan, in fish roe and surimi samples. **Food Chem**, 146: 141-148, 2014.

MARINA, G., PINTADO, H., GONZÁLEZ, M. E., PABLO, A. L. M. Determining the distribution of triclosan and methyl triclosan in estuarine settings. **Chemosphere**, 95:478-485, 2014.

MELO, L. P.; NOGUEIRA, A. M.; LANÇAS, F. M.; QUEIROZ, M. E. C. Polydimethylsiloxane/ polypirrole stir bar sortive extraction and liquid

- chromatography (SBSE/LC-UV) analysis of antidepressants in plasma samples. **Anal Chim Acta**, 633: 57-64, 2009.
- MITRA, S. Sample preparation techniques in analytical chemistry. **John Wiley & Sons, Inc. Publication**, Hoboken, New Jersey, 2003.
- NASSIRI, M.; ZAHEDI, M. M.; POURMORTAZAVI, S. M.; YOUSEFZADE, M. Optimization of dispersive liquid-liquid microextraction for preconcentration and spectrophotometric determination of phenols in Chabalar Bay seawater after derivatization with 4-aminoantipyrine. **Mar Pollut Bull**, 86: 512-517, 2014.
- NENG, N. R.; PINTO, M. L.; PIRES, J.; MARCOS, P. M.; NOGUEIRA, J. M. F. Development, optimisation and application of polyurethane foams as new polymeric phases for stir bar sorptive extraction. **J. Chromatogr. A**, 1171: 8–14, 2007.
- NICNAS – Department of Health and Ageing. Priority Existing Chemicals Assessment Report Nº 30. Triclosan. 01/2009.
- PINTADO-HERRERA, M. G. GONZÁLEZ-MAZO, E.; LARA-MARTÍN, P. A. Determining the distribution of triclosan and methyl triclosan in estuarine settings. **Chemosphere**, 95: 478–485, 2014.
- PINTO, A.; OLIVEIRA, C. H.; RIBEIRO, N. M. Efeito de microondas na estrutura cristalina e na atividade catalítica de argilas. **Quim Nova**, 31 (nº 03): 562-568, 2008.
- PIRARD, C.; SAGOT, C.; DEVILLE, M.; DUBOIS, N.; CHARLIER, C. Urinary levels of bisphenol A, triclosan and 4-nonylphenol in a general Belgian population. **Environ Int**, 48: 78–83, 2012.
- Portaria MS/2914/2011, de 12/12/2011, do Ministério da Saúde - Qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade.
- PRIETO, A.; BASAURI, O.; RODIL, R.; USOBIAGA, A.; FERNÁNDEZ, L. A.; ETXEBARRIA, N.; ZULOAGA, O. Stir-bar sorptive extraction: A view on method optimisation, novel applications, limitations and potential solutions. **J Chromatogr A**, 1217: 2642-2666, 2010.
- RAMASWAMY, B. R.; SHANMUGAM, G.; VELU, G.; RENGARAJAN, B.; LARSSON, J. GC-MS analysis and ecotoxicological risk assessment of triclosan, carbamazepine and parabens in Indian rivers. **J Hazard Mater**, 186: 1568-1593, 2011.
- SIGMA-ALDRICH. Padrão analítico Metil-triclosan, disponível em: <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/search?term=4640-01-interface=CAS%20No>.

- &N=0+&mode=partialmax&lang=pt®ion=BR&focus=product, acessado em 08/2016.
- SILVA, A. R. M.; NOGUEIRA, J. M. F. New approach on trace analysis of triclosan in personal care products, biological and environmental matrices. *Talanta* 74: 1498-1504, 2008.
- SILVERSTEIN, R. M.; BASSLER, G. C.; MORRILL, T. C. Identificação espectrométrica de compostos orgânicos. Editora Guanabara Koogan, 5ª edição, 1994.
- SOLOMONS, T. W. G. Química Orgânica. Editora LTC, 7ª edição, 2000.
- STASINAKIS, A. S. GATIDOU, G.; MAMAI, D.; THOMAIDIS, N. S.; LEKKAS, T. D. Occurrence and fate of endocrine disrupters in Greek sewage treatment plants. **Water Res**, 42, n. 6-7: 1796-1804, 2008.
- STEWART, J. S.; PARIKH, S.; XIAO, G.; TONGE, P. J.; KISKER, C. Structural basis and mechanism of Enoyl Reductase Inhibition by Triclosan. **J Mol Biol**, 290: 850-865, 1999.
- STUART, M. E.; MANAMSA, K.; TALBOT, J. C.; CRANE, E. J. Emerging contaminants in groundwater. Groundwater Science Programme, Open Report OR/11/013, Inglaterra: BGS - British Geological Survey. 2011.
- TIBURTIUS, E. R. L.; SCHEFFER, E. W. O. Triclosan: Destino no Meio Ambiente e Perspectivas no Tratamento de Águas de Abastecimento Público, *Rev. Virtual Quim.*, 2014
- U.S. EPA – United States Environmental Protection Agency. Method 1694 - Pharmaceuticals and Personal Care Products in Water, Soil, Sediment, and Biosolids by HPLC-MS/MS. 2007.
- WENJUAN, L., YOUNGLEI, C., DAYONZ, L., XINGGUO, C., JERZY, L. Methyl-triclosan binding to human serum albumin: Multi-spectroscopic study and visualized molecular simulation. **Chemosphere**, 92: 1125-1130, 2013.
- XUE, J.; WU, Q.; SAKTHIVEL, S.; PAVITHRAN, P. V.; VASUKUTTY, J. R.; KANNAN, K. Urinary levels of endocrine-disrupting chemicals, including bisphenols, bisphenol A diglycidyl ethers, benzophenones, parabens, and triclosan in obese and non-obese Indian children. **Environ Res**, 137:120-128, 2015
- YU, C.; HU, B. C18-coated stir bar sorptive extraction combined with high performance liquid chromatography–electrospray tandem mass spectrometry for the analysis of sulfonamides in milk and milk powder. **Talanta**, 90: 77-84, 2012.