UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS INSTITUTO DE QUÍMICA

FRANCIELLE QUEIROZ SOARES

# DESENVOLVIMENTO DE FASES MONOLÍTICAS PARA MÉTODOS DE EXTRAÇÃO APLICADOS A ANÁLISE LC-UV DE HERBICIDAS EM AMOSTRAS DE ÁGUA

GOIÂNIA

2018



PRO-REITORIA DE



#### TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR VERSÕES ELETRÔNICAS DE TESES E DISSERTAÇÕES NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), regulamentada pela Resolução CEPEC nº 832/2007, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei nº 9610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou *download*, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

#### 1. Identificação do material bibliográfico: [] Dissertação [x] Tese

2. Identificação da Tese ou Dissertação:

Nome completo do autor: FRANCIELLE QUEIROZ SOARES

Título do trabalho: DESENVOLVIMENTO DE FASES MONOLÍTICAS PARA MÉTODOS DE EXTRAÇÃO APLICADOS A ANÁLISE LC-UV DE HERBICIDAS EM AMOSTRAS DE ÁGUA

3. Informações de acesso ao documento:

Concorda com a liberação total do documento [X] SIM [] NÃO<sup>1</sup>

Havendo concordância com a disponibilização eletrônica, torna-se imprescindível o envio do(s) arquivo(s) em formato digital PDF da tese ou dissertação.

Francielle Quing Seares

Assinatura do(a) autor(a)<sup>2</sup>

alerlass real inely

Assinatura do(a) orientador(a)<sup>2</sup>

Data: 19/06/18

<sup>1</sup> Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. A extensão deste prazo suscita justificativa junto à coordenação do curso. Os dados do documento não serão disponibilizados durante o período de embargo. Casos de embargo:

Solicitação de registro de patente

Ciente e de acordo:

Submissão de artigo em revista científica

Publicação como capítulo de livro

Publicação da dissertação/tese em livro

<sup>2</sup>A assinatura deve ser escaneada.

Versão atualizada em maio de 2017.

## FRANCIELLE QUEIROZ SOARES

### DESENVOLVIMENTO DE FASES MONOLÍTICAS PARA MÉTODOS DE EXTRAÇÃO APLICADOS A ANÁLISES LC-UV DE HERBICIDAS EM AMOSTRAS DE ÁGUA

Tese de doutorado apresentada ao Instituto de Química da Universidade Federal de Goiás, como requisitos para obtenção do título de Doutor em Química.

Orientador: Prof. Dr. Denilson Rabelo

Co-Orientadora: Profa. Dra. Andrea Rodrigues Chaves

Goiânia-GO

2018

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UFG.

> Queiroz Soares, Francielle DESENVOLVIMENTO DE FASES MONOLÍTICAS PARA MÉTODOS DE EXTRAÇÃO APLICADOS A ANÁLISES LC-UV DE HERBICIDAS EM AMOSTRAS DE ÁGUA [manuscrito] / Francielle Queiroz Soares. - 2018. 125 f.

Orientador: Prof. Dr. Denilson Rabelo; co-orientadora Dra. Andréa Rodrigues Chaves.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Goiás, Instituto de Química (IQ), Programa de Pós-Graduação em Química, Goiânia, 2018.

1. Polímeros Monolíticos. 2. Extração em Fase Sólida. 3. Herbicidas Triazínicos. I. Rabelo, Denilson, orient. II. Título.

CDU 54



Dedicatória

Aos meus pais, Mário e Ailda, às minhas irmãs, Amanda e Luanna, ao meu esposo Marçal e ao meu filho Gregório. Amo vocês infinitamente.

### Agradecímentos

Ao meu esposo e incondicional companheiro Marçal por todo amor e sabedoria; por não ter me deixado desistir nos momentos difíceis e sempre seguir ao meu lado, na pesquisa científica e na vida. Você é meu ponto de equilibrio e lucidez.

Ao meu filhote Gregório, minha continuidade, que tem sempre um sorriso lindo pra me acalmar. Você é o meu melhor resultado.

Agradeço aos meus país, Mário e Ailda, minhas irmāzinhas, Amanda e Luanna, e ao meu sobrinho Terêncio, que sempre me apoiaram incondicionalmente; pelos momentos que não estivemos juntos e souberam entender; pelo apoio e incentivo nessa etapa; pela presença constante; pelo amor infinito. Vocês são minha essência.

À família Ruggiero que me receberam com muito carinho e me incentivaram nessa etapa. D. Yolanda (Vó), Tia Tereza, Mariswaldo *in memorian*, Marcelo, Marcos, Paulinha *in memorian*, Júnia, Lucas, Rafa, Mayna, Gui, Kauê, Nandinha, Júlia, Dudinha e Manu, obrigada!

À professora Andrea, minha amiga, minha comadre. Graças a você, comecei e terminei essa pesquisa. Agradeço as horas que passou ao meu lado me ajudando, me ensinando e, acima de tudo, sendo uma amiga com quem pude contar sempre. Você é um exemplo de dedicação, empenho e solidariedade. Muito obrigado pela paciência, por sempre estar disposta a me ajudar. Obrigada por tudo!

Agradeço ao professor Denilson, a oportunidade de tê-lo como orientador de Iniciação Científica, Mestrado e Doutorado. Devo a você grande parte da minha formação.

Ao professor Paulo Sérgio, sempre muito prestativo e cordial, pelo apoio instrumental.

Ao amigo Evilázaro, que além de amizade, me ajudou com seus conhecimentos de um grande profissional da química.

Aos amígos Franco, Adriene e Bruna que estiveram comigo na pesquisa com a "dexa". Além dos bons resultados na pesquisa, tivemos muitos momentos de alegría.

Ao amígo Danns, que me ajudou com seu conhecimento e amízade. Obrigada por me apoiar não só nesses cínco mais, mas nesses 17 anos.

Aos amígos que sempre estiveram ao meu lado torcendo por mim e me proporcionaram momentos de descontração.

À Laila, que me conhece mais que eu mesma, e sempre me fez ver a vida da melhor forma possível. Nesses 13 anos posso dízer que cresci muito, graças a você.

Aos professores e funcionários do Instituto de Química por terem sido sempre prestativos e desde 2000 estão fazendo parte de minha formação.

À instituição onde trabalho, Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia de Goiás - IFG, pelo apoio nessa trajetória. Espero retribuir o conhecimento adquirido.

À Fundação de Amparo à Pesquísa do Estado de Goiás - FAPEG pela bolsa de doutorado concedida.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES.

Se não puder voar, corra. Se não puder correr, ande. Se não puder andar, rasteje, mas contínue em frente de qualquer jeito.

(Martin Luther King Jr.)

Os seus problemas... Você deve esquecer! Isso é víver! É aprender... HAKUNA MATATA

Tímão, Pumba e Símba O Reí Leão, 1994.

#### RESUMO

Os polímeros monolíticos podem ser definidos como polímeros contínuos altamente porosos, sintetizados *in situ* em um molde. Esses materiais têm sido empregados em aplicações cromatográficas devido a combinação de alta área superficial com excelentes propriedades de permeabilidade e transporte de massa.

Nesse trabalho, polímeros monolíticos a base de estireno e divinilbenzeno foram sintetizados por iniciação térmica, via polimerização em massa na presença de diferentes diluentes; e via polimerização em emulsão de alta fase interna, na presença e na ausência de tolueno como diluente.

Os monolitos produzidos via polimerização em massa, que foram sintetizados na presença das misturas binárias tetrahidrofurano/decanol e tolueno/decanol como diluentes de polimerização na proporção 15:85 (v/v) apresentaram resistência mecânica para serem aplicados como fases extratoras. Ambas as formulações produziram polímeros com característica macroporosa е а mistura tetrahidrofurano/decanol apresentou canais maiores, resultando em menor resistência à vazão, desta forma este foi utilizado como fase extratora para técnica de preparo de amostras baseada em dispositivo de extração sortiva em ponteira (DPX) aplicado à determinação de triazinas em amostras de água. Nas condições otimizadas a recuperação absoluta para as triazinas variou de 28 a 64%.

Para os monolitos produzidos via polimerização em emulsão de alta fase interna, o efeito do solvente é mais significativo para o aumento da área superficial e do volume e diâmetro médio de poros do que o efeito da redução desses pelo aumento da velocidade de agitação. Com isso o monolito preparado na presença de tolueno na velocidade de 3000 rpm obteve maior área superficial e maior volume e diâmetro de poro, resultando em menor resistência à vazão e sua superfície foi modificada com polipirrol. Quando submetidos ao processo de extração empregando dispositivos de extração em fase sólida (SPE), o monolito recoberto com filmes de PPY, apresentou maior eficiência de extração sendo então seus parâmetros otimizados para determinação de triazinas em amostras de água pelo método SPE/LC-UV (SPE/cromatografia líquida de alta eficiência com detecção UV-vis). Segundo as figuras de mérito avaliadas o método SPE/LC-UV proposto, apresentou

linearidade na faixa de concentração de 0,5-50 ng.mL<sup>-1</sup> e recuperação absoluta de 75 a 105 %, com precisão demonstrada pelos coeficientes de variação menores que 15%. O limite de quantificação do método foi de 0,5 ng.mL<sup>-1</sup> para todos os analitos.

Assim sendo, foi possível desenvolver novas fases monolíticas de baixo custo com resistência química e mecânica e características físico-químicas adequadas para emprego como fase extratora em técnica miniaturizada de preparo de amostras DPX, assim como em SPE. As fases desenvolvidas foram avaliadas para determinação de triazinas em amostras de água apresentando seletividade e sensibilidade adequada. Com base nos resultados, as fases desenvolvidas apresentam se como promissora alternativa às fases extratoras comerciais.

**Palavras chaves:** Polímeros monolíticos, extração em fase sólida, herbicidas triazínicos.

#### ABSTRACT

Monolithic polymers can be defined as continuous porous polymers, synthesized in situ in a mold. These materials have been used in chromatographic applications due to the combination of high surface area with excellent permeability and mass transport properties.

In this work, monolithic polymers based on styrene and divinylbenzene were synthesized by thermal initiation via bulk polymerization in the presence of different diluents; and via high internal phase emulsion polymerization in presence and absence of toluene as diluent.

The monoliths produced via bulk polymerization, which were synthesized in the presence of binary mixtures tetrahydrofuran/decanol and toluene/decanol as polymerization diluents in the ratio 15:85 (v/v) showed mechanical resistance to be applied as extractive phases. Both formulations produced polymers with macroporous characteristics and the tetrahydrofuran/decanol mixture presented larger channels, resulting in higher permeability, in this way it was used as extraction phase for the technique of preparation of samples based on a device of sorptive extraction of micropipette tip (DPX) applied to the determination of triazines in water samples. Under optimized conditions the absolute recovery for the triazines varied from 28 to 64%.

The monoliths produced by high internal phase emulsion polymerization showed macroporosity. We have found that the effect of the solvent is more significant for the increase in surface area and the volume and mean diameter of pores than the effect of the reduction of these by the increase in velocity. With this, the monolith prepared in the presence of toluene at a speed of 3000 rpm obtained a larger surface area and a larger volume and pore diameter, resulting in a higher permeability. The surface of this monolith was modified with polypyrrole, to verify this film on the selectivity of the resulting phase. When submitted to the extraction process using solid phase extraction devices (SPE), the monolith covered with PPY films presented better extraction efficiency and its parameters were optimized for determination of triazines in water samples by the SPE/LC-UV method (SPE/high performance liquid chromatography with UV-vis detection). According to the figures of merit evaluated, the proposed SPE/LC-UV method presented linearity in the concentration range of 0.5-50 ng.mL<sup>-1</sup> and absolute recovery of 75 to 105%, with precision demonstrated by the coefficient of variation lower than 15%. The limit of quantification of the method was 0.5 ng.mL<sup>-1</sup> for all the analytes.

Thus, it was possible to develop new low-cost monolithic phases with chemical and mechanical resistance and physicochemical characteristics suitable for use as extractive phase in the miniaturized technique of preparation of DPX samples, as well as SPE. The developed phases were evaluated for the determination of triazines in water samples with adequate selectivity and sensitivity. Based on the results, the developed phases present themselves as promising alternative to the commercial extractive phases.

Keywords: Monolithic polymers, solid phase extraction, triazine herbicides.

### LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 MICROGRAFIAS DE FASES MONOLÍTICAS DE (A) SÍLICA E (B) POLI (METACRILATO DE BUTILA-CO-DIMETACRILATO DE ETILENO)29
FIGURA 2 ILUSTRAÇÃO ESQUEMÁTICA DA FORMAÇÃO DA EMULSÃO E SÍNTESE DO MONOLITO QUE CONTÉM UMA FASE INTERNA AQUOSA DISPERSA DENTRO DE UMA FASE EXTERNA MONOMÉRICA
FIGURA 3 DEFINIÇÃO DE POROS E GARGANTAS DE POROS
FIGURA 4 ESQUEMA DE UM CARTUCHO EMPREGADO EM SPE
FIGURA 5 ETAPAS ENVOLVIDAS NO PROCESSO DE SPE
FIGURA 6 TÉCNICAS MINIATURIZADAS DE EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA40
FIGURA 7: REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DA S-TRIAZINA43
FIGURA 8: REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DA REAÇÃO DE SÍNTESE DO MONOLITO ESTIRENO E DIVINILBENZENO
FIGURA 9 ESPECTRO FTIR DOS MONOLITOS: M1-THF/ISOPROPANOL; M2-TOLUENO/ISOPROPANOL; M3-THF/DECANOL; M4-TOLUENO/DECANOL; M5-TOLUENO/HEPTANO
FIGURA 10 ESPECTRO FTIR DOS MONOLITOS E01 (SEM DILUENTE, 3000 rpm), E02 (TOLUENO, 3000 rpm) e E03 (TOLUENO, 10000 rpm)69
FIGURA 11 FOTOGRAFIA DOS MONOLÍTICOS: (A) M1-THF/ISOPROPANOL; (B) M2-TOLUENO/ISOPROPANOL; (C) M3-THF/DECANOL; (D) M4-TOLUENO/ DECANOL; (E) M5-TOLUENO/HEPTANO
<b>FIGURA 12</b> MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA DO MONOLITO M3- THF/DECANOL COM AUMENTO DE (A) 1500X E (B) 3000X72

**FIGURA 13** MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA DO MONOLITO M4- TOLUENO/DECANOL COM AUMENTO DE (A) 1500X E (B) 3000X......73

FIGURA 17 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA DO MONOLITO E02- TOLUENO/3000 rpm COM AUMENTO DE (A) 7000X (B) 4000X E (C) 1500x 79

FIGURA 18 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA DO MONOLITO E3- TOLUENO/10000 rpm COM AUMENTO DE (A) 7000X (B) 4000X E (C) 1500x.80

FIGURA 19 ESPECTRO FTIR DOS MONOLITOS E02 E E02/PPY......81

**FIGURA 24** CROMATOGRAMA REFERENTE À ANALISE SIMULTÂNEA DA SOLUÇÃO PADRÃO DAS TRIAZINAS NA CONCENTRAÇÃO DE 1,0 ng.mL<sup>-1</sup>......87

FIGURA 25 FOTOGRAFIA DO DISPOSITIVO DPX UTILIZADO PARA O PREPARO DE AMOSTRA
FIGURA 26 OTIMIZAÇÃO DO SOLVENTE DE DESSORÇÃO DO MÉTODO DPX/LC-UV PARA ANÁLISE SIMULTÂNEA DAS TRIAZINAS
FIGURA 27 OTIMIZAÇÃO DO VOLUME DE SOLVENTE DE DESSORÇÃO DO MÉTODO DPX/LC-UV PARA ANÁLISE SIMULTÂNEA DAS TRIAZINAS
FIGURA 28 OTIMIZAÇÃO DO VOLUME DE AMOSTRA DO MÉTODO DPX/LC-UV PARA ANÁLISE SIMULTÂNEA DAS TRIAZINAS91
FIGURA 29 EFICIÊNCIA DE EXTRAÇÃO DAS FASES E01, E02 E E02/PPY PARA O MÉTODO SPE/L-UV PARA ANÁLISE SIMULTÂNEA DAS TRIAZINAS
FIGURA 30 OTIMIZAÇÃO DO FLUXO DE EXTRAÇÃO DO MÉTODO SPE/LC-UV PARA ANÁLISE SIMULTÂNEA DAS TRIAZINAS96
FIGURA 31 OTIMIZAÇÃO DO SOLVENTE DE DESSORÇÃO DO MÉTODO SPE/LC-UV PARA ANÁLISE SIMULTÂNEA DAS TRIAZINAS
FIGURA 32 OTIMIZAÇÃO DO VOLUME DE SOLVENTE DE DESSORÇÃO DO MÉTODO SPE/LC-UV PARA ANÁLISE SIMULTÂNEA DAS TRIAZINAS
FIGURA 33 OTIMIZAÇÃO DO pH DA AMOSTRA DO MÉTODO SPE/LC-UV PARA ANÁLISE SIMULTÂNEA DAS TRIAZINAS
FIGURA 34 OTIMIZAÇÃO DA ADIÇÃO DE SAL DO MÉTODO SPE/LC-UV PARA ANÁLISE SIMULTÂNEA DAS TRIAZINAS
FIGURA 35 OTIMIZAÇÃO DO VOLUME DE AMOSTRA DO MÉTODO SPE/LC-UV PARA ANÁLISE SIMULTÂNEA DAS TRIAZINAS102
FIGURA 36 CROMATOGRAMA DA AMOSTRA DE ÁGUA BRANCO DE REFERÊNCIA E DA AMOSTRA DE ÁGUA BRANCO DE REFERÊNCIA FORTIFICADA NO LIMITE DE QUANTIFICAÇÃO REFERENTE A ANÁLISE SPE/LC-UV PARA ANÁLISE SIMULTÂNEA DAS TRIAZINAS

### LISTA DE TABELAS

<b>TABELA 1</b> ESTRUTURA E PROPRIEDADES DAS TRIAZINAS MAIS COMUNS44
<b>TABELA 2</b> MÉTODOS DE PREPARO DE AMOSTRA E ANÁLISE NADETERMINAÇÃO DE TRIAZINAS
<b>TABELA 3</b> DILUENTES UTILIZADOS PARA A SÍNTESE DOS MONOLITOS VIAPOLIMERIZAÇÃO EM MASSA
<b>TABELA 4</b> MISTURA REACIONAL E CONDIÇÕES DE SÍNTESE PARA OSMONOLITOS VIA POLIMERIZAÇÃO EM EMULSÃO DE ALTA FASE INTERNA56
<b>TABELA 5</b> CONDIÇÕES CROMATOGRÁFICAS LC-UV PARA ANÁLISESIMULTÂNEA DAS TRIAZINAS.60
<b>TABELA 6</b> BANDAS DE ABSORÇÃO NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO DOSMONOLITOS STY-DVB
<b>TABELA 7</b> ÁREA SUPERFICIAL, VOLUME E DIÂMETRO DE POROS PARA OSMONOLITOS E01 (SEM DILUENTE, 3000 rpm), E02 (TOLUENO, 3000 rpm) eE03 (TOLUENO, 10000 rpm)
<b>TABELA 8</b> BANDAS DE ABSORÇÃO NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO DOMONOLITO E02/PPY.82
<b>TABELA 9</b> ÁREA SUPERFICIAL, VOLUME E DIÂMETRO DE POROS PARA OSMONOLITOS E02 E E02/PPY
<b>TABELA 10</b> ORDEM DE ELUIÇÃO DAS TRIAZINAS E SEUS RESPECTIVOSTEMPOS DE RETENÇÃO
<b>TABELA 11</b> RECUPERAÇÃO ABUSOLUTA E COEFICIENTE DE VARIAÇÃO DOCARTUCHO E02/PPY APÓS 10 EXTRAÇÕES
<b>TABELA 12</b> SÉRIE ELUOTRÓPICA UTILIZADA NA SELEÇÃO DO SOLVENTE DEDESSORÇÃO

**TABELA 13** LINEARIDADE, LIMITE DE QUANTIFICAÇÃO E COEFICIENTE DEVARIAÇÃO DO MÉTODO SPE/LC-UV PARA ANÁLISE SIMULTÂNEA DASTRIAZINAS.105

**TABELA 14**LIMITES DE DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DO MÉTODOSPE/LC-UV PARA ANÁLISE SIMULTÂNEA DAS TRIAZINAS114

**TABELA 15** RECUPERAÇÃO E COEFICIENTE DE VARIAÇÃO INTER-ENSAIO DO MÉTODO SPE/LC-UV PARA ANÁLISE SIMULTÂNEA DAS TRIAZINAS NAS CONCENTRAÇÕES DE 0,5 ng.mL<sup>-1</sup>, 10 ng.mL<sup>-1</sup> E 50 ng.mL<sup>-1</sup>......115

**TABELA 16** FIGURAS DE MÉRITO AVALIADAS NO MÉTODO SPE/LC-UV PARAANÁLISE SIMULTÂNEA DAS TRIAZINAS117

### LISTA DE ABREVIATURAS

- AIBN Azo-bis-Isobutironitrila
- ANVISA Agência Nacional De Vigilância Sanitária
- BET Brunauer-Emmett-Teller
- BJH Barrett-Joyner-Halenda
- C.V. Coeficiente De Variação
- CONAMA Conselho Nacional De Meio Ambiente
- D<sub>p</sub> Diâmetro Médio Dos Poros
- DPX Extração Sortiva Com Ponteira Descartável
- DVB Divinilbenzeno
- E01 Monolito Estireno-Divinilbenzeno Preparado Via Polimerização Em Emulsão
  Alta Fase Interna Sem Diluente Na Velocidade De 3000 rpm
- E02 Monolito Estireno-Divinilbenzeno Preparado Via Polimerização Em Emulsão Alta Fase Interna Com Tolueno Na Velocidade De 3000 rpm
- E03 Monolito Estireno-Divinilbenzeno Preparado Via Polimerização Em Emulsão Alta Fase Interna Com Tolueno Na Velocidade De 10000 rpm
- E03/PPY Monolito Estireno-Divinilbenzeno Recoberto Com Polipirrol
- FA Fase Aquosa
- FO Fase Orgânica
- FTIR Espectroscopia De Absorção Na Região Do Infravermelho Com Transformada De Fourier
- HRAC Herbicide Resistence Action Committee
- IUPAC União Internacional De Química Pura E Aplicada
- LC-UV Cromatografia Líquida Com Detecção UV
- LD<sub>50</sub> Dose Letal suficiente para exterminar 50% da população em estudo
- LLE Extração Líquido-Líquido
- LMR Limite Máximo Residual
- LOD Limite De Detecção
- LOQ Limite De Quantificação
- M01 Monolito Estireno-Divinilbenzeno Preparado Via Polimerização Em Massa Com Tetrahidrofurano E Isopropanol

- M02 Monolito Estireno-Divinilbenzeno Preparado Via Polimerização Em Massa Com Tolueno E Isopropanol
- M03 Monolito Estireno-Divinilbenzeno Preparado Via Polimerização Em Massa Com Tetrahidrofurano E Decanol
- M04 Monolito Estireno-Divinilbenzeno Preparado Via Polimerização Em Massa Com Tolueno E Decanol
- M05 Monolito Estireno-Divinilbenzeno Preparado Via Polimerização Em Massa Com Tolueno E Heptano
- MAPA Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
- MEPS Microextração Com Sorvente Empacotado
- MEV Microscopia Eletrônica De Varredura
- **PPY** Polipirrol
- SBET Área Superficial Específica
- SBSE Extração Sortiva Em Barra De Agitação
- SFE Extração Com Fluido Supercrítico
- SPE Extração Em Fase Sólida
- SPME Microextração em Fase Sólida
- Sty Estireno
- Sty-DVB Copolímero Estireno-Divinilbenzeno
- THF Tetrahidrofurano
- V<sub>p</sub> VolumeTotal De Poros

# SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO		25
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA		28
2.1 MATERIAIS MONOLÍTICOS		28
2.2 PREPARAÇÃO DE POLÍMEROS MONOLÍTICOS ORGÂNICOS		30
2.2.1 POLIMERIZAÇÃO EM MASSA	. 32	
2.2.2 POLIMERIZAÇÃO EM EMULSÃO DE ALTA FASE INTERNA	. 34	
2.3 PREPARO DE AMOSTRA	•••••	36
2.4 HERBICIDAS		41
2.4.1 HERBICIDAS TRIAZINICOS	. 42	
2.4.2 MONITORAMENTO AMBIENTAL	. 46	
3 OBJETIVOS		50
3.1 OBJETIVO GERAL		50
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS		50
4 METODOLOGIA		52
4.1 PADRÕES E REAGENTES ANALÍTICOS		52
4.2 SÍNTESE DOS POLÍMEROS MONOLÍTICOS		53
4.2.1 POLIMERIZAÇÃO EM MASSA	. 54	
4.2.2 POLIMERIZAÇÃO EM EMULSÃO DE ALTA FASE INTERNA	. 55	
4.3 MODIFICAÇÃO DA SUPERFÍCIE DO MONOLÍTIO COM POLIPIRROL		56
4.4 CARACTERIZAÇÃO DOS MATERIAIS OBTIDOS		57
4.4.1 ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO NA REGIA	0	DO
	. 58	
	. 58	
	. 59	50
4.5 AVALIAÇÃO COMO FASE EXTRATORA PARA ANALISE DE TRIAZIN	50	
4.5.1 CORVA ANALITICA	. J9 NITE	IRΔ
DESCARTÁVEL (DPX)	61	
4.5.3 EFICIÊNCIA DE EXTRAÇÃO E OTIMIZAÇÃO DO PROCE	SSO	DE
EXTRACÃO EM FASE SÓLIDA (SPE)	. 62	
4.5.4 VALIDAÇÃO ANALÍTICA DO PROCESSO DE EXTRAÇÃO E	M FA	ASE
SÓLIDA	. 63	
4.5.4.1 Linearidade	. 63	
4.5.4.2 Recuperação	. 64	
4.5.4.3 Precisão Inter-Ensaio	. 64	
4.5.4.4 Limite de Quantificação	. 65	
4.5.4.5 Limite de Detecção	. 66	

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES	67
5.1 SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DOS MONOLITOS STY/DVB	67
5.1.1 MONOLITOS STY/DVB VIA POLIMERIZAÇÃO EM MASSA	
5.1.2 MONOLITOS STY/DVB VIA POLIMERIZAÇÃO EM EMULSÃO DE A	LTA
FASE INTERNA73	
5.2 SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DO MONOLITO E02/PPY	81
5.3 CONDIÇÕES CROMATOGRÁFICAS LC-UV	86
5.4 MONOLITOS STY/DVB COMO FASE EXTRATORA PARA DPX	.87
5.5 MONOLITOS STY/DVB COMO FASE EXTRATORA PARA SPE	92
5.5.1 EFICIÊNCIA DA FASE EXTRATORA PARA O MÉTODO SPE 93	
5.5.2 REUSO DA FASE EXTRATORA E02/PPY	
5.5.3 OTIMIZAÇÃO DO MÉTODO DE EXTRAÇÃO SPE	
5.5.4 VALIDAÇÃO DO MÉTODO SPE/LC-UV 103	
5.5.4.1 Seletividade do método SPE/LC-UV 103	
5.5.4.2 Linearidade do método SPE/LC-UV104	
5.5.4.3 Limites de Detecção e de Quantificação do método SPE/LC-UV 113	
5.5.4.4 Recuperação do método SPE/LC-UV 115	
5.5.5 APLICABILIDADE DO MÉTODO SPE/LC-UV 117	
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	121
7 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	123

### 1 INTRODUÇÃO

O preparo da amostra nas análises químicas e biológicas é uma etapa crítica no processo analítico, pois por mais moderna que possa ser considerada uma técnica analítica, na maior parte dos casos, ainda não é possível a inserção direta da amostra bruta, devido ao grande números de interferentes presentes, além da incompatibilidade com os equipamentos analíticos.

O preparo da amostra para as análises de herbicidas se faz necessário, uma vez que existem diversos interferentes na matriz que afetam sua identificação e quantificação e também devido aos limites rigorosos estabelecidos para água e alimentos. Esse pré-tratamento proporciona o isolamento e a pré-concentração necessários para a detecção dos herbicidas em níveis adequados.

Devido às limitações inerentes aos materiais de sílica, tais como a presença de grupos silanois polares, relativa baixa área superfícial, e estreita estabilidade na faixa de pH (2-8), os suportes poliméricos estão se tornando uma alternativa viável, uma vez que as fases poliméricas possibiltaram estender a faixa de pH (1-13) e podem ser quimicamente modificada para adição de grupos funcionais deixando os suportes mais seletivos (FARIA et al., 2006).

Uma alternativa, para o aumento da seletividade dos suportes poliméricos, é o recobrimento com polímeros condutores, como o polipirrol, que devido a sua estrutra química e possibilidade de dopagem por protonação, podem exercer diferentes tipos de interações como o analito, tais como: ácido-base,  $\pi$ - $\pi$ , troca iônica, interações

com afinidades hidrofóbicas ou com grupos funcionais polares (WU; PAWLISZYN, 2001). O polipirrol tem sido estudado em métodos de separação devido sua característica de alta estabilidade no estado oxidado e devido a sua capacidade de extração de compostos polares e aromáticos (MOHAMMADI; YAMINI; ALIZADEH, 2005), (BAGHERI; AYAZI, 2011).

A polimerização do pirrol pode ser alcançada empregando oxidação eletroquímica ou oxidação química. No método eletroquímico existe a desvantagem em obter, em larga escala, um filme na superfície do polímero hospedeiro. Na oxidação química, a quantidade de polipirrol obtida é menor, no entanto apresenta a vantagem de facilitar a produção em larga escala em menor tempo. No entanto a fragilidade dos filmes de polipirrol restringe o potencial de suas aplicações (AYDINLI; TOPPARE; TINÇER, 1999).

Para superar a fragilidade do polipirrol, uma alternativa é preparar compósitos de polipirrol utilizando um suporte com melhores propriedades mecânicas. Dentre os suportes que podem ser utilizados, os polímeros porosos, como o estirenodivinilbenzeno apresentam vantagens devido à possibilidade de controlar suas características morfológicas pelas variáveis de seu processo de síntese.

Uma classe de polímeros porosos que vem despertando o interesse no cenário científico são os polímeros monolíticos. Esses polímeros podem ser definidos como polímeros contínuos e altamente porosos. Esses polímeros são sintetizados por meio da mistura de um agente iniciador, com os monômeros específicos (inclusive o agente formador de ligações cruzadas) e os solventes apropriados incluindo, neste caso, o agente formador de poros, seguido da polimerização *in situ* em um molde. Normalmente, uma mistura binária de solventes pode ser empregada com a finalidade de se obter polímeros com um conjunto de características apropriadas à sua aplicação final (FARIA et al., 2006).

A alta porosidade, a escolha do agente iniciador e sua proporção, o grau de ligações cruzadas, dependem do tipo de polimerização, da compatibilidade entre os reagentes e do tipo de aplicação do material polimérico (SVEC; FRECHET, 1995). Assim, por meio do controle destes fatores é possível obter polímeros monolíticos com um conjunto de propriedades físico-químicas que os habilitam como fases

extratoras. Dentre essas propriedades podemos citar: a sua permeabilidade que é controlada pelo diâmetro médio dos poros e pela sua alta porosidade externa; a sua eficácia de extração que é controlada pelo diâmetro médio dos poros e pela velocidade da fase móvel; e a sua capacidade de retenção que está relacionada com a área superficial específica do adsorvente e a distribuição de tamanho de poros (GUIOCHON; BEAVER, 2011).

Portanto, as fases monolíticas orgânicas apresentam-se como alternativa altamente viável como fase estacionária para técnicas de separação e preparo de amostra devido a sua alta porosidade, rápida transferência de massa, estabilidade e flexibilidade para realização de modificações químicas.

Nesta tese, será investigada a preparação e caracterização de polímeros monolíticos, a base de estireno-divinilbenzeno, como fases extratoras para métodos de preparo de amostra de herbicidas triazínicos em amostras de água aplicados a análises LC-UV.

#### 2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

### 2.1 MATERIAIS MONOLÍTICOS

Uma classe de polímeros que vem se destacando dentro do cenário das pesquisas científicas são os chamados polímeros monolíticos os quais possuem uma ampla variedade de aplicações. Esses materiais monolíticos porosos têm sido empregados principalmente em aplicações cromatográficas devido à combinação de alta área superficial com excelentes propriedades de permeabilidade e transporte de massa (SVEC; TENNIKOVA; DEYL, 2003).

Uma fase monolítica é um meio contínuo de separação que possui o formato do molde no qual foi produzido. A sua estrutura sólida é fixa e contínua (contendo uma "partícula única"), formada pelos pequenos domínios e pelos canais macroporosos comumente maiores que 1cµm de diâmetro. Os domínios podem ser microporosos (< 2 nm) ou mesoporosos (2-50 nm), ter estrutura dupla de poros (micro e mesoporos), ou podem ser não porosos. Os domínios porosos contribuem para o aumento da área superficial específica do monolito e também na separação cromatográfica (FARIA et al., 2006).

A fase móvel passa pela coluna principalmente através dos canais do monolito, que oferecem uma menor resistência à vazão, devido a sua elevada

permeabilidade, sendo possível realizar análises em vazões elevadas (> 5 mL.min<sup>-1</sup>) mas sem perdas significativas da eficiência de separação.

Dependendo da natureza do precursor empregado o material monolítico se enquadra em duas categorias: baseados em polímeros orgânicos e baseados em sílica. Nos monolitos de sílica (Figura 1A), os esqueletos de sílica e os longos canais dentro da estrutura monolítica apresentam-se em uma sequência ordenada e ininterrupta, enquanto que, nos monolitos poliméricos orgânicos (Figura 1B), os domínios são normalmente constituídos de microglóbulos interligados (FARIA et al., 2006)

### FIGURA 1 MICROGRAFIAS DE FASES MONOLÍTICAS DE (A) SÍLICA E (B) POLI (METACRILATO DE BUTILA-CO-DIMETACRILATO DE ETILENO).



Fonte: (FARIA et al., 2006)

Os polímeros monolíticos estão se tornando cada vez mais populares como materiais adsorventes e, juntamente com monolitos de sílica, são apresentados como substitutos das partículas usadas como fases estacionárias em cromatografia líquida de alta eficiência.

Uma ampla variedade de moldes de tamanhos diferentes que variam de canais microfluídicos a grandes colunas de vários centímetros de diâmetro podem ser utilizados. Os materiais do molde incluem aço inoxidável, silício, polímeros sintéticos (poliéter-éter-cetona, polimetacrilato de metila), polipropileno, sílica fundida, quartzo e vidro. As formas variaram de tubulares (tubos rígidos, capilares flexíveis) a áreas planas com canais (chips microfluídicos), (SVEC; TENNIKOVA; DEYL, 2003).

### 2.2 PREPARAÇÃO DE POLÍMEROS MONOLÍTICOS ORGÂNICOS

A preparação de polímero monolítico orgânico é um processo simples e direto usando uma "moldagem". O molde é selado em uma extremidade, preenchido com uma mistura de polimerização e depois selado na outra extremidade. A polimerização é então iniciada por aquecimento ou por irradiação UV, a partir de uma solução contendo monômeros, um iniciador e solventes porogênicos. Ao final da polimerização, o monolito é lavado com um solvente para remover os resíduos de polimerização.

Os fatores que afetam na formação da porosidade são os que afetam diretamente a extensão da separação de fases. Entre esses fatores estão a concentração de agente de reticulação, a temperatura, a relação entre a quantidade de diluente e de monômero (grau de diluição) e a afinidade química do polímero pelo solvente, ou seja, o poder solvatante do diluente (BUCHMEISER, M.; 2007), (OKAY, 2000).

A escolha do solvente formador de poros é uma ferramenta que pode ser usada para o controle da porosidade sem afetar a composição química do polímero final. A separação de fases de núcleos reticulados é um pré-requisito para a formação de macroporos. A fase polimérica separa da solução durante a polimerização, como resultado de sua limitada solubilidade na mistura de polimerização.

Se o sistema diluente dos monômeros é um bom agente de solvatação para o polímero em formação, as cadeias poliméricas ficam mais estendidas e a separação de fase, devido à insolubilidade do polímero reticulado, ocorre mais tarde produzindo poros pequenos. Quando o diluente é um mau solvente de solvatação, as cadeias poliméricas ficam mais retraídas e a separação de fases ocorre mais cedo, como resultado, poros maiores são gerados. O diluente solvatante e não-solvatante podem ser chamados de diluentes microporogênicos e macroporogênicos, respectivamente (COUTINHO, F. et al.; 1998), (OKAY, 2000), (BUCHMEISER, 2008).

Outro fator importante na formação de poros é a temperatura de polimerização. Esse fator, afeta especialmente a taxa de iniciação, pois é a etapa que mais depende da temperatura por possuir uma maior energia de ativação. Quanto mais baixa a temperatura, maiores os poros.

A taxa de decomposição do iniciador, bem como a taxa de polimerização global são mais altas em temperatura elevada, com isso, mais núcleos são formados de uma só vez e todos competem com os monômeros remanescentes. Como a taxa de nucleação é mais rápida do que o crescimento a oferta de monômeros se exaure após um menor período de tempo e o número de núcleos que crescem até o tamanho globular é grande, mas seus tamanhos permanecem relativamente pequenos e os vazios intersticiais entre glóbulos menores também são menores. Assim, o tamanho dos poros está inversamente relacionado à temperatura tanto para as esferas quanto para o monolito (SVEC; FRECHET, 1995).

Em contraste com a temperatura, o aumento na proporção do agente de reticulação presente na mistura de monômeros afeta não apenas as propriedades porosas, mas também a composição química dos monolitos finais. O tamanho médio dos poros diminui como resultado da formação precoce de glóbulos altamente reticulados com uma menor tendência de coalescer. No entanto, a polimerização de misturas com um elevado teor de agente de reticulação é útil para a preparação de monolitos com elevadas áreas superficiais (SVEC; TENNIKOVA; DEYL, 2003).

Assim, por meio do controle das condições reacionais é possível controlar o diâmetro médio e distribuição de poros e a área superficial específica, para obter polímeros monolíticos com um conjunto de propriedades físico-químicas que os habilitam como possíveis fases extratoras ou estacionárias em separações.

### 2.2.1 POLIMERIZAÇÃO EM MASSA

Os polímeros porosos são caracterizados por uma estrutura porosa permanente formada durante a sua preparação que persiste mesmo no estado seco. Sua estrutura interna é composta por inúmeras cavidades interconectadas (poros) de diferentes tamanhos, e sua rigidez estrutural é resultado de uma extensa reticulação. Estes polímeros são tipicamente produzidos como esferas por um processo de polimerização em suspensão (OKAY, 2000). Portanto, é conveniente rever aqui os conceitos que são fundamentais para a formação e controle de estruturas macroporosas.

O mecanismo clássico da formação de poros durante a polimerização heterogênea (polimerização em suspensão para formação de pérolas) na presença de solvente não solvatante usado como porogênico não permite uma previsão das propriedades porosas resultantes em uma polimerização em massa. O conhecimento atual dos fatores que controlam o tamanho dos poros dos polímeros macroporosos produzidos via polimerização em massa permanece principalmente empírico, pois é derivado em grande parte dos estudos publicados sobre esferas macroporosas (OKAY, 2000). Além disso, o conhecimento adquirido para a preparação de esferas porosas não parece ser diretamente aplicável às espécies monolíticas macroporosas. Por exemplo, a distribuição de tamanho dos poros do monolito é da ordem de 10 vezes maior que da observada para as esferas preparadas com mesma mistura de polimerização usando ambos o mesmo tempo de reação e mesma temperatura. Outra característica dos monolitos é a presença de canais que não são encontrados nas esferas (SVEC; FRECHET, 1995).

O mecanismo de formação de poros durante a polimerização em massa é afetado pela ausência tanto da tensão interfacial quanto das forças dinâmicas que são típicas para o processo de polimerização em suspensão, resultando em poros maiores e canais. No entanto, o mecanismo básico da polimerização na presença de um solvente porogênico é geral e permanece independentemente da técnica de polimerização (SVEC; FRECHET, 1995).

Na polimerização em massa, o conteúdo do molde permanece estacionário durante a polimerização, com isso, no inicio da polimerização, os núcleos e seus aglomerados sedimentam no fundo do molde formando uma estrutura solta, altamente porosa e desorganizada. Nesse início, os núcleos mantem sua individualidade, no entanto, à medida que a polimerização continua, eles entram em contato um com o outro e se interconectam como resultado da formação continuada de novos núcleos, e a estrutura solta torna-se mais coesa. O processo de polimerização continua tanto na solução de monômero acima dos núcleos poliméricos precipitados inicialmente, quanto na solução que permeia os poros muito grandes entre os aglomerados de microesferas. Com isso ocorre o desaparecimento dos poros muito grandes nos últimos estágios da polimerização e a redução da individualidade dos núcleos levam a uma diminuição no volume de poros e nas áreas superficiais dos monolitos (SVEC; FRECHET, 1995).

Em contraste com os monolitos, os núcleos em crescimento nas gotículas da mistura de polimerização em suspensão dispersos na fase aquosa mantem sua individualidade por mais tempo crescendo separadamente, e com isso empacotam melhor dentro da esfera (gota). Como resultado, os vazios entre os glóbulos que constituem uma esfera são menores. Portanto, a dinâmica do sistema é a principal causa da diferença na distribuição do tamanho dos poros entre os monolitos e as esferas (SVEC; FRECHET, 1995).

No entanto, como os efeitos dinâmicos não são afetados pela temperatura, as diferenças nos perfis de porosidade entre as duas formas persistem. Se a polimerização é realizada em um molde a uma temperatura mais baixa, o número de núcleos é menor e, portanto, eles têm mais tempo para crescer. Isso resulta em glóbulos e aglomerados de tamanho maior. Portanto, os vazios entre os aglomerados também são maiores e o perfil de distribuição de tamanho dos poros é deslocado para poros maiores (SVEC; FRECHET, 1995).

### 2.2.2 POLIMERIZAÇÃO EM EMULSÃO DE ALTA FASE INTERNA

Os polímeros sintetizados via polimerização em emulsão de alta fase interna, são obtidos a partir de emulsões altamente viscosas na qual a fase interna corresponde a mais de 74% do volume, e está dispersa na fase continua externa (LISSANT; MAYHAN, 1973). Como em emulsões comuns, as emulsões podem ser tanto óleo em água como água em óleo.

A preparação dessas emulsões concentradas requer uma seleção cuidadosa do surfactante, onde o mesmo precisa ser muito insolúvel na fase das gotículas para evitar a inversão da emulsão em frações de volume de fase interna alta (CAMERON, 2003).

Conceitualmente, a preparação de materiais porosos pela modelagem da estrutura de emulsão de alta fase interna, envolve a polimerização da fase contínua em torno das gotículas da fase dispersa. Assim, as gotículas criam os vazios na estutura e levam à morfologia porosa e permeável. Em princípio, qualquer líquido polimerizável pode ser usado para preparar o monolito poroso, no entanto, na prática, é limitado a líquidos que (i) são suficientemente hidrofílicos ou hidrofóbicos para formar uma emulsão estável e (ii) não são adversamente afetados pela água, pois uma das fases é geralmente aquosa (CAMERON, 2003).

O procedimento usado para preparar esses materiais, consiste em adicionar lentamente a solução da fase interna aquosa à solução monomérica de fase contínua (externa) contendo o surfactante, com constante agitação mecânica, para formar a emulsão, seguido da polimerização dos monômeros Esse processo é representado na Figura 2. FIGURA 2 ILUSTRAÇÃO ESQUEMÁTICA DA FORMAÇÃO DA EMULSÃO E SÍNTESE DO MONOLITO QUE CONTÉM UMA FASE INTERNA AQUOSA DISPERSA DENTRO DE UMA FASE EXTERNA MONOMÉRICA.



Fonte: adaptado de (SILVERSTEIN, 2014)

Nesse tipo de material os poros são grandes cavidades de dimensões micrométricas produzidas pela remoção da fase aquosa (interna), que são conectados por uma série de pequenas conexões chamadas gargantas de poro. As gargantas de poros são formadas nas áreas de pontos de contato entre gotículas vizinhas da emulsão e permitem que os poros vizinhos comuniquem uns com os outros. A Figura 3 ilustra a definição dos poros e das gargantas de poros em um polímero monolítico sintetizado pela referida técnica (MENNER; BISMARCK, 2006), (CAMERON et al., 1996).



### FIGURA 3 DEFINIÇÃO DE POROS E GARGANTAS DE POROS

Fonte: adaptado de (MENNER; BISMARCK, 2006)

Os polímeros monolíticos preparados por polimerização em emulsão de alta fase interna possuem propriedades únicas, como a baixa densidade e a estrutura de poros interconectados.

#### 2.3 PREPARO DE AMOSTRA

O preparo de amostras constitui, em geral, a etapa de maior consumo de tempo, insumos químicos e trabalho dentro de um método analítico. Isso ocorre principalmente devido ao fato de que, por mais moderna que possa ser considerada uma técnica analítica, ainda não é possível a inserção direta da amostra bruta, na maior parte dos casos, devido ao grande números de interferentes existentes na amostra, além da incompatibilidade com os equipamentos analíticos.

Para a resolução desse problema, vários métodos de preparo de amostras foram e têm sido desenvolvidos até hoje para isolar e concentrar os analitos, separando-os dos interferentes existentes na matriz da amostra.

Atualmente existem diversas técnicas empregadas, no preparo de amostras, tais como os processos de extração líquido-líquido (LLE), a extração em fase sólida (SPE) e todas as suas vertentes atuais.

A técnica de extração líquido-líquido apresenta desvantagens, tais como o uso de grandes volumes de solventes orgânicos, o rendimento de extração é muitas vezes insuficiente e outro passo de pré-concentração se faz necessário, o procedimento de extração tende a ser tedioso, lento e difícil de automatizar, a separação de fases é muitas vezes complicada pela formação de emulsões entre as fases; resultando na perda do soluto (LANÇAS, 2004).

A extração em fase sólida (Solid Phase Extraction - SPE) foi introduzida em 1976 para suprir as desvantagens apresentadas pela extração líquido-líquido e,
hoje, consiste no método mais popular de preparo de amostra, sendo utilizada pela maioria das análises cromatográficas de rotina. A SPE superou a técnica de extração líquido-líquido, uma vez que é mais rápida, apresenta melhor reprodutibilidade, consome menos solventes orgânicos, e sua automação é mais fácil (JARDIM, 2010).

A SPE é uma técnica de separação do tipo líquido-sólido baseada nos mecanismos de separação da cromatografia líquida de baixa pressão, onde os analitos contidos numa matriz são extraídos, juntamente com os compostos interferentes, após passarem por um cartucho contendo a fase adsorvente. Um solvente orgânico seletivo é utilizado para remover os interferentes e então, outro solvente é usado para lavar os analitos de interesse, de forma a coletar o analito em concentração já apropriada para análise (LANÇAS, 2004).

A extração em fase sólida apresenta uma grande variedade de fases extratoras, resultando em diferentes tipos de interações com o analito, favorecendo a seletividade analítica. As fases comerciais mais comuns são as baseadas em sílica, conhecidas como C4, C8, C18, fenil ligado à sílica, cianopropil ligado à sílica e a fase chamada de "fase normal" constituída de sílica ligada a um grupo diol, para extração de compostos muito polares, porém não iônicos. Há ainda as fases baseadas em alumina, em silicato de magnésio (Florisil), e carvão ativo, empregadas nas extrações por adsorção, e as resinas de troca iônica. Além da variedade comercialmente disponível, esse número continua em expansão devido ao desenvolvimento de novos materiais e suas aplicações como fases extratoras (LANÇAS, 2004), (JARDIM, 2010), (SIMPSON; MARTHA, 2000).

A Figura 4 apresenta o cartucho em fora de seringa que o formato mais popular em SPE. Um cartucho típico contem cerca de 50 a 500 mg de fase extratora com 40 a 60 µm de tamanho de partícula, fixado no tubo por meio de dois filtros (frits) de tamanho de poros de 20 µm. Sua popularidade reside no fato de permitir a aplicação de grandes volumes de amostra, no caso de análise de águas, e apresentar uma variedade interessante de volumes. Os cartuchos comerciais de SPE podem ser adquiridos em capacidades que vão desde 1 mL até 60 mL de amostra (LANÇAS, 2004).



#### FIGURA 4 ESQUEMA DE UM CARTUCHO EMPREGADO EM SPE

Fonte: (LANÇAS, 2004)

Em geral, a SPE pode ser usada para três importantes propósitos: extração e/ou concentração do analito, isolamento da matriz e estocagem da amostra. Assim, o primeiro propósito refere-se aos analitos que ficam retidos na fase extratora para posterior eluição; o segundo, aos analitos que são eluídos diretamente, enquanto as substâncias interferentes ficam retidas, sendo que, nesse caso, tem-se o *clean-up* da amostra e não a concentração do analito; e o terceiro, aos analitos que ficam retidos na fase extratora, em seguida o cartucho é armazenado e transportado até o laboratório, evitando assim, o transporte de grandes volumes de amostras (JARDIM, 2010).

A Figura 5 mostra as principais etapas envolvidas no processo de SPE, quando o objetivo é isolar um composto (ou uma classe) presente em uma amostra complexa: (1) condicionamento do cartucho; (2) adição da amostra; (3) eliminação dos interferentes (clean up); (4) eluição dos analitos.

#### FIGURA 5 ETAPAS ENVOLVIDAS NO PROCESSO DE SPE



Fonte: adaptado de (LANÇAS, 2004)

Uma vez que as fases sólidas empregadas em SPE são similares àquelas empregadas em cromatografia líquida em coluna, os mecanismos de separação também são similares e a fase poderá ser classificada como não-polar, polar ou trocador de íons. A SPE de fase normal envolve uma fase estacionária polar e a retenção é decorrente da interação entre grupos funcionais polares do analito e grupos polares na superfície do adsorvente. A SPE de fase reversa envolve um adsorvente apolar com uma fase móvel polar ou moderadamente polar, é geralmente usada para amostras aquosas, cuja principal força de interação são as forças de van der Waals. A SPE de troca iônica possui resinas trocadoras de íons e pode ser usada para compostos que são carregados quando em uma solução (ÖTLES; KARTAL, 2016).

A extração em fase sólida segue a tendência no campo de preparo de amostra no sentido de redução de reagentes, solventes, quantidade de amostra e tempo de análise. Nesse contexto, tem-se a miniaturização da extração em fase sólida. Exemplos de técnicas miniaturizadas de extração em fase sólida, representadas na Figura 4, são a microextração em fase sólida (SPME - solid-phase microextration), a microextração com adsorvente empacotado (MEPS - microextraction by packed sorbent), a extração sortiva em barra de agitação (SBSE – stir bar sorptive extraction) e a extração sortiva com ponteira descartável (DPX - Disposable pipette extraction).



## FIGURA 6 TÉCNICAS MINIATURIZADAS DE EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA.

Fonte: adaptado de (DUAN et al., 2011)

A SPME é uma fibra de sílica fundida recoberta com a fase extratora, e a MEPS é considerada uma miniaturização da SPE em cartucho, uma vez que a fase encontra-se dentro de um pequeno cartucho acoplado à ponta de uma seringa, com a vantagem de, nesse formato, permitir o fluxo bidirecional tanto no processo de amostragem, como na dessorção dos analitos. O fluxo bidirecional é uma característica que é compartilhada pela DPX, que é baseada na utilização de uma ponteira de pipeta descartável, contendo a fase extratora. Na SBSE, uma barra magnética é recoberta com a fase extratora e deixada em contato com a solução contendo o analito a ser extraído (DUAN et al., 2011).

A DPX é um dispositivo à base de extração em fase sólida (SPE) no qual uma pequena quantidade de fase extratora é colocada dentro de uma ponteira de pipeta equipada com uma tela na extremidade inferior estreita e uma barreira próxima ao topo da ponta. Embora a DPX seja uma técnica derivada da SPE, a eficiência de extração é baseada no tempo de equilíbrio de sorção entre a amostra e a fase extratora dispersiva; consequentemente, este processo não é dependente da taxa de fluxo da amostra (BREWER, 2003). Além disso, o formato miniaturizado para DPX resulta em menores volumes de eluição de solvente do que a técnica convencional de SPE.

#### 2.4 HERBICIDAS

Segundo a legislação vigente (Lei 7802/89), agrotóxicos são produtos e agentes de processos físicos, químicos ou biológicos, utilizados nos setores de produção, armazenamento e beneficiamento de produtos agrícolas, pastagens, proteção de florestas, nativas ou plantadas, e de outros ecossistemas e de ambientes urbanos, hídricos e industriais. O agrotóxico visa alterar a composição da flora ou da fauna, a fim de preservá-las da ação danosa de seres vivos considerados nocivos. Também são considerados agrotóxicos as substâncias e produtos empregados como desfolhantes, dessecantes, estimuladores e inibidores de crescimento (BRASIL, 1989).

Existem diversas classificações para os agrotóxicos, entretanto as mais utilizadas classificam essas substâncias quanto à sua ação (Inseticidas, fungicidas, herbicidas, raticidas, acaricidas), ao grupo químico a que pertencem (S-triazinas, organofosforados, organoclorados, carbamatos, piretróides, etc) e quanto ao seu poder de toxicidade (classe I, classe II, classe III e classe IV).

Herbicidas são compostos químicos que tem a capacidade de matar ou inibir drasticamente o crescimento de determinadas plantas, muitas vezes sem afetar as culturas. Eliminam assim os prejuízos da interferência das plantas daninhas sobre as culturas.

Existe uma grande variedade de herbicidas, que atuam de diferentes mecanismos de ação, ajudando a controlar as ervas daninhas. A classificação dos herbicidas de acordo com seu modo de ação tem sofrido mudanças ao longo do tempo, tanto pela descoberta de novos herbicidas quanto pela elucidação dos sitios de atução nas plantas. A classificação internacional aceita atualmente é aquela proposta pela *Herbicide Resistence Action Committee* (HRAC). Dentre os mecanismos de ação podemos citar os inibidores da acetil CoA Carboxilase, inibidores acetolactato sintase, mimetizadores da auxina, inibidores da síntese do caroteno, inibidores da fotossíntese (FSI e FSII), inibidores da protoporfirinogenio

oxidase, inibidores da biossíntese de carotenoides, inibidores da glutamina sintetase, inibidores da divisão celular, e outros (MARCHI; MARCHI; GUIMARÃES, 2008).

### 2.4.1 HERBICIDAS TRIAZÍNICOS

A descoberta inicial e o desenvolvimento de herbicidas triazínicos ocorreram entre 1950 e 1970. O primeiro herbicida triazínico registrado foi a simazina (produzido por J. R. Geigy, Ltd.), que foi aprovado na Suíça em 1956, e no final da decada de 1950 a atrazina foi introduzida na Europa. Os herbicidas triazínicos trouxeram uma nova era de controle de ervas daninhas pré-emergentes e pósemergentes para a tecnologia agrícola (LEBARON; MCFARLAND, 2015).

Os herbicidas do grupo das triazinas são empregados em diversos tipos de cultura inibindo o transporte de elétrons durante a fotossíntese. De acordo com o seu mecanismo de ação, as triazinas são classificadas como inibidores do fotossistema II (FSII) e apresentam uma toxicidade considerada entre baixa e mediana. Dentre os efeitos tóxicos aos mamíferos, são destacados como principais, os efeitos de toxicidade reprodutiva e atraso na maturação sexual de indivíduos (NICOLOPOULOU-STAMATI et al., 2016).

A maioria dos herbicidas triazínicos são derivados da s-triazina (Figura 7), um heterociclo de seis membros com átomos de nitrogênio localizados simetricamente, nas posições 2, 4 e 6.

# FIGURA 7: REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DA S-TRIAZINA.



Fonte: Do autor

Os nomes das s-Triazinas e suas propriedades principais são determinados principalmente pelo substituinte na posição 1 (R1). De acordo com esse substituinte, as s-triazinas são divididas em três grupos perfeitamente característicos: clorotriazinas possui o substituinte -CI e o nome comercial termina em AZINE, metoxitriazinas possui o substituinte -OCH<sub>3</sub> e o nome comercial termina em TON, metiltiotriazinas possui o substituinte -SCH<sub>3</sub> e o nome comercial termina em TRYN.

As clorotriazinas são triazinas de primeira geração, já a metoxitriazinas e metiltiotriazinas são triazinas de segunda geração, obtidos pela introdução dos radicais metoxila e tiometila, respectivamente com um terceiro substituinte.

Os compostos do grupo das triazinas são polares, fracamente alcalinos e a sua estabilidade é explicada pela configuração eletrônica de seu anel heterocíclico. A acidez das s-triazinas diminui de acordo com a seguinte ordem -OCH3 <-SCH3 <-CI e a solubilidade em água é maior em condições ácidas.

Os herbicidas, ametrina, atrazina, propazina, prometrina, simazina, simetrina, terbutrina e prometon são representantes das s-triazinas cujas estruturas, algumas características e usos encontram-se ilustradas na Tabela 1.

HERBICIDA	Pk	LD <sub>50</sub> a (mg/kg)	LMR <sup>1</sup> (mg/kg)	Tipos de culturas
ATRAZINA CI N NHCH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> N N NHCH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	1,7	7 1869-3090	0,02-0,25	mandioca, sorgo, cana- de-açúcar, pastagem, macadâmia, abacaxi e sisal.
PROPAZINA CI N NHCH(CH <sub>3</sub> ) N NHCH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	2 1,7	7 >3100	-	sorgo, cenoura e salsa.
SIMAZINA CI N NHCH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> N NHCH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	1,62	500-10000	0,02-0,2	cana-de-açúcar, abacaxi, banana, sisal, uva, cacau, maçã, café, sorgo, milho, e seringueira.
AMETRINA H <sub>3</sub> CS N NHCH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> N NHCH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	4,1	1160	0,02-0,07	abacaxi, cacau, café, milho, uva, cana-de-açúcar, banana, algodão, mandioca, e terra não cultivada

## TABELA 1 ESTRUTURA E PROPRIEDADES DAS TRIAZINAS MAIS COMUNS.

44

Continua

HERBICIDA	Pka	LD <sub>50</sub> (mg/kg)	LMR <sup>1</sup> (mg/kg)	Tipos de culturas
PROMETRINA H <sub>3</sub> CS N NHCH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> N NHCH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	4,1	>3100	0,02-0,05	algodão, feijão, cebola, girassol, amendoim, batata, ervilha, alho e cenoura.
SIMETRINA H <sub>3</sub> CS NHCH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> N NHCH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	4,0	750-1195	-	Usado em combinação com thiobencarb, em cultura de arroz.
TERBUTRINA H <sub>3</sub> CS N NHC(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> N NHC(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	4,3	2500	-	Cereal de inverno, cana de açúcar, girassol e mandioca.
PROMETON H <sub>3</sub> CO N NHCH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> N NHCH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	4,3	2980	-	Controle anual de ervas daninhas em áreas não cultivadas

~	
	RIAZINAS
<b>`</b>	

Conclusão

Fonte: Do autor

LD<sub>50</sub> (Dose Letal) para ratos (TOMLIN, 2003) <sup>1</sup> LMR (Limite Máximo Residual) - Monografia de Agrotóxicos da Agencia Nacional de Vigilância Sanitária. Campo preenchido somente para os ingredientes ativos autorizados no Brasil.

#### 2.4.2 MONITORAMENTO AMBIENTAL

Os agroquímicos possuem diferentes propriedades físico-químicas e são geralmente encontrados em concentrações baixas, dificultando sua detecção em análises químicas. O método analítico escolhido deve levar em consideração o tipo de amostra (por exemplo, traços ou múltiplos analitos em amostras complexas) e as propriedades físico-químicas do analito para medição (por exemplo, absorbância no UV, espectro de massas, interações seletivas, etc). Dessa forma, alguns procedimentos devem ser adotados para a realização das análises, como: amostragem, pré-tratamento das amostras e tratamento dos dados.

O preparo da amostra nas análises químicas e biológicas é uma etapa crítica no processo analítico e tem sido um obstáculo a ser transposto para atingir resultados adequados em relação à exatidão, precisão e uma boa detectabilidade. O pré-tratamento da amostra para as análises de herbicidas se faz necessário, haja vista que, diversos interferentes afetam sua identificação e quantificação e o prétratamento proporciona o isolamento e a pré-concentração dos analitos.

Assim sendo, vários métodos de extração são adequados para a préconcentração e separação do analito na matriz, seguida de várias técnicas de detecção e suas combinações para a determinação real. Na Tabela 2 estão apresentados resultados, como limite de detecção (LOD), limite de quantificação (LOQ) e taxa de recuperação, da literatura para análise das triazinas em água e alimentos, utilizando a extração em fase sólida convecional (SPE) e sua miniaturização na forma da extração em ponteira descartável (DPX) com diversas fases extratoras e diferentes técnicas cromatográficas.

Herbicida/matriz	Fase de extração	Preparo de amostra/ método de análise	Referência
Atrazina, Ametrina e Terbutrina em água e trigo	Nanofibras de polibutileno tereftalato/polipirrol (PBT/PPy)	μ-SPE/GC-MS LOD 50-90 ng.L <sup>-1</sup> Recuperação 82-97%	(BAGHERI; REZVANI; BANIHASHEMI, 2016)
Triazinas e compostos de degradação em água	Cleanert PCX (polímero de troca catiônica)	d-µ-SPE/UPLC-MS LOD 0,2-30,0 ng.L <sup>-1</sup> Recuperação 70-112%	(CHEN et al., 2015)
Fenuron, Simeton, Atraton Simazina, Clortoluron, Secbumeton e Terbumeton em oleo vegetal	MIL-101 (híbrido de estrutura organometálica)	d-µ-SPE/LC-DAD LOD 0,585-1,04 µg.L <sup>-1</sup> Recuperação 87-107%	(LI et al., 2015)
Triazinas e produtos de degradação em água do mar	OASIS HLB (N- vinilpirrolidona/ divinilbenzeno)	on-line SPE/ UPLC- tandem MS LOQ 0,023-0,657 µg L <sup>-1</sup>	(RODRÍGUEZ- GONZÁLEZ et al., 2016)
Simazina, Prometon, Prometrina, Terbumeton e Atrazina em alimentos	MIP para triazinas (Technologies AB)	SPE/LC-UV LOD 1,3-3,0 µg.kg <sup>−1</sup>	(CHIMUKA et al., 2011)

# TABELA 2 MÉTODOS DE PREPARO DE AMOSTRA E ANÁLISE NA DETERMINAÇÃO DE TRIAZINAS.

Continua

Herbicida/matriz	Fase de extração	Preparo de amostra/ método de análise	Referência
Cianazina e Atrazina em pepino	híbrido de tetraetil <i>o</i> -silicato e γ- (metacriloiloxi) propil trimetoxi silano	DPX/LC-UV LOD 3,5-5,2 µg.kg <sup>-1</sup> LOQ 11,6-17,5 µg.kg <sup>-1</sup> Recuperação 87,6-93,8%	(WANG et al., 2015)
Multiresíduos incluindo triazinas em águas superficiais	PLRP-s (esferas de poliestireno- divinilbenzeno)	On line SPE/UPLC- MS/MS. LOD 6,0 ng.L <sup>-1</sup> LOQ 18,0 ng.L <sup>-1</sup>	(HURTADO- SÁNCHEZ et al., 2013)
Atrazina e Simazina em água	Amberlie XAD-4 (esferas de troca iônica/Sty-DVB)	SPE/LC-DAD LOD 0,084-0,121 μg.L <sup>-1</sup> Recuperação 99,6-104,8%	(AKDOGAN; DIVRIKLI; ELCI, 2013)
Propazina, Simazina e Atrazina em milho e solo	MIP ligado em TiO <sub>2</sub>	SPE/LC-UV LOD 3,32-7,06 nmol.kg <sup>-1</sup> Recuperação 78-103,3%	(GENG et al., 2015)
Multiresíduos incluindo triazinas em águas superficiais	PLRP-s (esferas de poliestireno- divinilbenzeno)	SPE/GC-MS LOD 0,06-20 ng.L <sup>-1</sup> LOQ 0,2-65 ng.L <sup>-1</sup> Recuperação 65,6-100,3%	(PURDEŠOV Á et al., 2013)

# CONTINUAÇÃO TABELA 2 MÉTODOS DE PREPARO DE AMOSTRA E ANÁLISE NA DETERMINAÇÃO DE TRIAZINAS.

Fonte: Do autor.

Com o propósito de evitar impactos adversos da agricultura no meio ambiente e na saúde pública, grande parte dos países estabeleceu limites máximos permitidos para determinados herbicidas em amostras de água e alimentos. Com o desenvolvimento de técnicas de quantificação mais sofisticadas e a constante preocupação da sociedade, em diversos países o número de moléculas com limites máximos permitidos estabelecidos aumentou e, em alguns casos, os limites tolerados foram reduzidos. No Brasil os órgãos que estabelecem esses limites são a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) e O Conselho Nacional de Meio Ambiente (CONAMA).

A Anvisa estabelece, para todos os ingredientes ativos de agrotóxicos autorizados no Brasil, o Limite Máximo de Resíduos (LMR), ou seja, a quantidade máxima de resíduo de agrotóxico que pode estar presente em cada cultura após aplicação do mesmo desde sua produção até o consumo. De acordo com a Anvisa, para as triazinas atrazina, simazina, ametrina e prometrina, esses limites variam de 0,02 a 0,2 mg/kg.

As triazinas possuem baixa biodegradabilidade e elevado potencial de contaminação de águas superficiais e de profundidade. A alta persistência destes compostos tem exigido um rigoroso controle da contaminação ambiental. O CONAMA, em sua resolução 357/2005, estabelece as diretrizes ambientais para o enquadramento dos corpos de aguas superficiais. A presença dos pesticidas nas águas superficiais regulados pela referida resolução, estabelece um máximo de concentração de 2 µg.L<sup>-1</sup> para atrazina e simazina.

Devido principalmente aos limites rigorosos de pureza da água e matrizes de alimentos com muitos interferentes, são necessários métodos de extração e préconcentração dos pesticidas presentes. **3 OBJETIVOS** 

#### **3.1 OBJETIVO GERAL**

O presente trabalho teve por objetivo desenvolver polímeros monolíticos orgânicos para serem empregados como fases extratoras para técnicas de preparo de amostra.

# 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Os objetivos específicos principais do presente trabalho foram:

a – Preparar polímeros monolíticos porosos à base de estireno (Sty) e divinilbenzeno (DVB), via polimerização em massa e polimerização em emulsão de alta fase interna.

 b – Estudar os efeitos dos agentes formadores de poros (diluentes) nas propriedades físico-químicas e na porosidade dos polímeros monolíticos produzidos.

c – Avaliar modificações na superfície do monolito com polipirrol.

 d – Avaliar a eficiência de extração dos polímeros monolíticos sintetizados via polimerização em massa como fases extratoras para extração sortiva com ponteira descartável (DPX) de herbicidas triazínicos em amostras de água.

 e – Avaliar a eficiência de extração dos polímeros monolíticos sintetizados via polimerização em emulsão de alta fase interna como fases extratoras para extração em fase sólida (SPE) de herbicidas triazínicos em amostras de água.

f – Otimizar o método SPE-LC-UV empregando a fase extratora que apresentar maior eficiência para o preparo de amostra de herbicidas triazínicos.

g – Avaliar as figuras de mérito do método SPE/LC-UV proposto.

**4 METODOLOGIA** 

## 4.1 PADRÕES E REAGENTES ANALÍTICOS

Os monômeros, estireno e divinilbenzeno grau comercial foram gentilmente cedidos pela Nitriflex (Rio de Janeiro, Brasil) e posteriormente destilados a pressão reduzida.

Os iniciadores de polimerização azo-*bis*-isobutironitrila (AIBN) e persulfato de potássio (K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>) grau analítico P.A. foram adquiridos da Sigma Aldrich (St. Louis, USA).

Os diluentes de polimerização, heptano, tolueno, isopropanol e tetrahidrofurano (THF) grau analítico P.A. foram adquiridos da Vetec (Rio de Janeiro, Brasil), e o diluente n-decanol grau analítico P.A. foi adquirido da Sigma Aldrich (St. Louis, USA).

O surfactante de fase orgânica, não iônico, monooleato de sorbitol (Span 80) grau analítico P.A. foi adquirido da Sigma Aldrich (St. Louis, USA).

O monômero pirrol grau analítico P.A. foi adquirido da Sigma Aldrich (St. Louis, USA).

O agente oxidante, cloreto de ferro III hexahidratado (FeCl<sub>3</sub>.2H<sub>2</sub>O), grau analítico P.A foi adquirido da Vetec (Rio de Janeiro, Brasil).

O metanol e acetonitrila, grau HPLC foram adquiridos da Scharlau (Barcelona, Espanha).

A água utilizada nos ensaios foi purificada pelo sistema Milli-Q, Millipore (São Paulo, Brasil) apresentando condutividade de 18,2 MΩ.

Os padrões primários das triazinas ametrina, atrazina, prometrina, propazina, simazina, simetrina e terbutrina foram adquiridos da Supelco (Bellefonte, USA)

# 4.2 SÍNTESE DOS POLÍMEROS MONOLÍTICOS

Os polímeros monolíticos foram sintetizados *in situ*, empregando um molde para obtenção do formato desejado. Os moldes utilizados foram seringa descartável de 5 mL sem o embolo (cartucho) e ponteira descartável de pipeta de 1 mL, ambos de polipropileno

Dois procedimentos de polimerização foram utilizados para síntese: polimerização em massa e polimerização em emulsão de alta fase interna. Estes procedimentos estão descritos nas próximas seções.

#### 4.2.1 POLIMERIZAÇÃO EM MASSA

O processo de síntese via polimerização em massa, é relativamente simples e ocorre praticamente em uma única etapa na qual não há necessidade de introduzir outras fases ao sistema reacional.

O iniciador de polimerização azo-*bis*-isobutironitrila (3 % em relação ao número de mols total dos monômeros) foi solubilizado na mistura dos monômeros formada por 16 % (v/v) de estireno (Sty) e 84% (v/v) de divinilbenzeno (DVB). Em seguida, foi adicionada a mistura binária de diluentes, cuja relação percentual foi de 15 % de diluente solvatante e 85% de diluente não-solvatante na proporção de 1:1,5 em relação ao volume total de monômeros. A Tabela 3 apresenta os monolitos sintetizados por polimerização em massa com diferentes pares de solventes.

• • • • •	Diluentes		
Monolito	Solvatante (15%)	Não-solvatante (85%)	
M1	THF	Isopropanol	
M2	Tolueno	Isopropanol	
M3	THF	Decanol	
M4	Tolueno	Decanol	
M5	Tolueno	Heptano	

#### TABELA 3 DILUENTES UTILIZADOS PARA A SÍNTESE DOS MONOLITOS VIA POLIMERIZAÇÃO EM MASSA.

Fonte: Do autor

A mistura reacional foi adicionada ao molde com auxilio de uma bomba seringa, o qual foi fechado nas duas extremidades com fita teflon e colocado em estufa a 60°C durante 24horas. Ao cartucho foi adicionado 1 mL e na ponteira de pipeta descartável foi adicionado 0,2 mL da mistura reacional.

Decorrido o tempo de polimerização, as amostras foram retiradas da estufa e resfriadas à temperatura ambiente e purificadas eluindo metanol pela fase para eliminar os monômeros e diluentes residuais. A purificação do monolito presente no cartucho e nas ponteiras foi feita em um sistema de filtração à vácuo manifold (SUPELCO). Após purificação os monolitos foram secos em estufa a 70 °C por 24 horas para serem caracterizados.

## 4.2.2 POLIMERIZAÇÃO EM EMULSÃO DE ALTA FASE INTERNA

Os polímeros monolíticos porosos foram sintetizados também via polimerização em emulsão, a partir da polimerização da fase externa (fase orgânica) na presença da fase interna (fase aquosa) empregando um *template* (molde) para obtenção do formato desejado.

A fase orgânica (FO) foi preparada pela mistura dos monômeros, Sty (38 % v/v) e DVB (38% v/v), com o surfactante Span 80 (24 % v/v). Quando mencionado (Tabela 4), foi adicionado à fase orgânica tolueno como diluente, na proporção de 1:1 em relação ao volume de monômeros. A mistura foi agitada com agitador mecânico durante 10 minutos a 300 rpm.

A fase aquosa (FA) foi preparada pela solubilização do iniciador persulfato de potássio (8% m/v) e do eletrólito cloreto de cálcio dihidratado (1,5% m/v) em água destilada.

A fase aquosa foi gotejada na fase orgânica a um fluxo de 1 mL.min<sup>-1</sup>, sob agitação constante para produzir uma emulsão homogênea. A relação entre fase orgânica e fase aquosa foi mantida constante e a velocidade de agitação foi variada, e encontram-se na Tabela 4.

Monolito	Diluente	FO:FA (v/v)	Velocidade de Agitação (rpm)
E1	-	1:5	3000
E2	Tolueno	1:5	3000
E3	Tolueno	1:5	10000

## TABELA 4 MISTURA REACIONAL E CONDIÇÕES DE SÍNTESE PARA OS MONOLITOS VIA POLIMERIZAÇÃO EM EMULSÃO DE ALTA FASE INTERNA.

Fonte: Do autor

A mistura reacional foi adicionada ao molde com auxílio de uma bomba seringa, o qual foi fechado nas duas extremidades com uma fita teflon e colocado em estufa a 60 °C durante 24 horas. Ao cartucho foi adicionado 1 mL e na ponteira de pipeta descartável foi adicionado 0,2 mL da mistura reacional.

Decorrido o tempo de polimerização, as amostras foram retirada da estufa e resfriadas à temperatura ambiente e purificadas eluindo metanol pela fase para eliminar os monômeros e diluentes residuais. A purificação do monolito presente no cartucho e nas ponteiras foi feita em um sistema de filtração à vácuo manifold (SUPELCO). Após purificação os monolitos foram secos em estufa a 70 °C por 24 horas para serem caracterizados.

# 4.3 MODIFICAÇÃO DA SUPERFÍCIE DO MONOLÍTIO COM POLIPIRROL

O polímero monolítico preparado via polimerização em emulsão de alta fase interna foi utilizado como suporte para o polipirrol por apresentar menor resistência à vazão em comparação ao polímero monolítico preparado via polimerização em massa. Inicialmente foi preparada uma solução com o agente oxidante cloreto de ferro III hexahidratado dissolvido em tetrahidrofurano na concentração de 24% (m/v), e outra solução com o monômero pirrol (70 % v/v) e tetrahidrofurano (30 % v/v). O volume tanto de solução oxidante quanto de solução monomérica, utilizada nas etapas de modificação, foi de 1 mL de cada solução para o monolito presente no cartucho e de 0,2 mL para o monolito presente na ponteira de pipeta descartável.

A modificação química ocorreu em três etapas na temperatura de 25 °C: I) percolação da solução oxidante saturando o monolito; II) secagem por 10 minutos com fluxo de ar, numa vazão de 2 mL.min<sup>-1</sup>; III) percolação da solução monomérica. A percolação das soluções ocorreu a pressão ambiente.

O monolito E02/PPY obtido foi lavado eluindo metanol em um sistema de filtração à vácuo manifold (SUPELCO) para remover os resíduos de síntese. Após purificação o monolito foi seco em estufa a 70 °C por 24 horas para ser caracterizado.

#### 4.4 CARACTERIZAÇÃO DOS MATERIAIS OBTIDOS

Todo material foi caracterizado por Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR), para a caracterização qualitativa de grupos funcionais característicos dos polímeros monolíticos puros. A porosidade dos monolitos foi avaliada por adsorção/dessorção de nitrogênio e a estrutura morfológica por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).

# 4.4.1 ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO

Para obtenção dos espectros de absorção na região do infravermelho dos monolitos utilizou-se um espectrômetro de infravermelho com transformada de Fourier, marca Perkin Elmer, modelo Spectrum 400, com resolução de 4 cm<sup>-1</sup> na faixa de número de onda de 4000 a 400 cm<sup>-1</sup>, utilizando a técnica de refletância total atenuada (ATR).

### 4.4.2 MEDIDAS DE ADSORÇÃO FÍSICA DE NITROGÊNIO

A área superficial específica ( $S_{BET}$ ), o volume total de poros ( $V_p$ ), o diâmetro médio dos poros ( $D_p$ ) e a distribuição de tamanho de poros dos materiais obtidos neste trabalho foram determinados por meio de dados de adsorção de nitrogênio a diferentes pressões relativas na temperatura do nitrogênio líquido, em um aparelho automático de adsorção e dessorção de nitrogênio Micromeritics, modelo ASAP-2020. A área superficial específica foi calculada com o auxílio da equação de BET (Brunauer-Emmett-Teller) e o volume total de poros, o diâmetro médio dos poros e a distribuição de tamanho de poros foram determinados pelo método BJH (Barrett-Joyner-Halenda) (WEBB; ORR, 1997).

A massa de amostra analisada foi em torno de 0,2 g. As amostras foram analisadas inteiras, ou no máximo com uma fratura.

## 4.4.3 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

A morfologia dos monolitos foi analisada por meio de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). As imagens de alta resolução foram geradas por um Microscópio Eletrônico de Varredura, Jeol, JSM – 6610, Thermoscientific NSS Spectral Imaging no Laboratório Multiusuário de Microscopia de Alta Resolução (LabMic) da Universidade Federal de Goiás. As amostras foram fraturadas e metalizadas com ouro para análise.

# 4.5 AVALIAÇÃO COMO FASE EXTRATORA PARA ANÁLISE DE TRIAZINAS

Todos os reagentes utilizados no processo de extração em fase sólida e análises cromatográficas foram grau analítico HPLC. A água utilizada nesses processos foi água ultrapura apresentando condutividade de 18,2 MΩ.

### 4.5.1 CURVA ANALÍTICA

Para quantificação dos analitos extraídos no preparo de amostra foi preparado uma solução estoque de cada um dos padrões (ametrina, atrazina, prometrina, propazina, simazina, simetrina e terbutrina) em metanol grau HPLC na

concentração de 100 mg.L<sup>-1</sup>. A partir dessa solução estoque foi feita diluição em metanol para obter a curva de calibração nas concentrações de 0,1, 1,0, 5,0, 10,0, 25,0 e 50,0 mg.L<sup>-1</sup>.

As análises cromatográficas foram realizadas em um cromatografo Agilent 1220 Infinity LC com detector UV e injetor automático. A coluna cromatográfica utilizada foi uma Kinetex C18 5µm, 4,6 mm de diâmetro interno e 150 mm de comprimento. As condições cromatográficas utilizadas estão apresentadas na Tabela 5.

TABELA 5 CONDIÇÕES CROMATOGRÁFICAS LC-UV PARA ANÁLISE SIMULTÂNEA DAS TRIAZINAS.

Parâmetro	Valor
Coluna	C18, 4,6 mm x 150 mm, 5 µm d.p, 35°C
Fase Móvel	H <sub>2</sub> O:Acetonitrila gradiente
Gradiente/Vazão	85-70% $H_2O$ de 0 a 3 min;1,1 mL min <sup>-1</sup>
	70-60% $H_2O$ de 3 a 5 min; 1,1 mL min <sup>-1</sup>
	60-52% $H_2O$ de 5 a 10 min; 1,1 mL min <sup>-1</sup>
	52-50% $H_2O$ de 10 a 22 min; 0,3 mL min <sup>-1</sup>
	50-85% $H_2O$ de 22 a 25 min; 0,3 mL min <sup>-1</sup>
	85% H <sub>2</sub> O por 5 min; 1,1 mL min <sup>-1</sup>
Detecção	UV λ= 228 nm
Volume injeção	20 µL
Fonte: Do autor	

# 4.5.2 OTIMIZAÇÃO DO PROCESSO DE EXTRAÇÃO SORTIVA EM PONTEIRA DESCARTÁVEL (DPX)

As fases extratoras avaliadas, pela técnica de extração sortiva em ponteira descartável (DPX), foram os monolitos preparados via polimerização em massa.

Após o processo de polimerização e purificação do monolito a ponteira foi realizada a etapa de condicionamento da fase eluindo 500 μL de metanol grau HPLC e posteriormente 500 μL de água ultrapura.

Os parâmetros otimizados foram volume de amostra (500, 750, 1000, 1500 e 2000  $\mu$ L), solvente de dessorção (acetato de etila, acetonitrila e metanol) e volume do solvente de dessorção (250, 750, 1000, 1250 e 1500  $\mu$ L).

Para cada parâmetro otimizado, foi utilizado 1 mL (exceto volume de amostra que foi variado) de uma amostra de agua ultrapura fortificada, na concentração de 10 ng.mL<sup>-1</sup>, com cada um dos herbicidas avaliados, a saber: ametrina, atrazina, prometrina, propazina, simazina, simetrina e terbutrina.

A amostra fortificada foi adicionada na ponteira e eluída através de um sistema de filtração à vácuo manifold, em seguida dessorvida com o solvente apropriado que, posteriormente, foi evaporado com fluxo de nitrogênio gasoso. Os analitos extraídos foram solubilizados em 1 mL de uma solução H<sub>2</sub>O:Acetonitrila 50:50(v/v) e analisados por LC de acordo com o método definido.

# 4.5.3 EFICIÊNCIA DE EXTRAÇÃO E OTIMIZAÇÃO DO PROCESSO DE EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA (SPE)

As fases extratoras avaliadas, pela técnica de extração em fase sólida (SPE) utilizando cartuchos, foram os monolitos preparados via polimerização em emulsão de alta fase interna e o monolito preparado via polimerização em emulsão de alta fase interna modificado com polipirrol.

Após o processo de polimerização e purificação do monolito o cartucho foi condicionado eluindo 5mL de metanol grau HPLC e posteriormente 5 mL de água ultrapura.

Para avaliar a eficiência de extração da fase foi preparado uma amostra de água ultrapura fortificada na concentração de 20 ng.mL<sup>-1</sup>, com cada um dos herbicidas avaliados, a saber: ametrina, atrazina, prometrina, propazina, simazina, simetrina e terbutrina. Foi eluido através de um sistema de filtração à vácuo manifold, 200 mL da amostra fortificada em fluxo de 2 mL.min<sup>-1</sup>. A dessorção do analito foi realizada eluindo 5 mL de acetato de etila, que posteriormente foi evaporado com fluxo de nitrogênio gasoso. Os analitos extraídos foram solubilizados em 1 mL de uma solução H<sub>2</sub>O:Acetonitrila 50:50(v/v) e posteriormente encaminhados ao sistema cromatográfico.

Em seguida, o processo de extração em fase sólida foi otimizado. Os parâmetros otimizados foram volume de amostra (100, 200, 300 e 500 mL), fluxo de extração (2, 6, 10 e 15 mL.min<sup>-1</sup>), solvente de dessorção (acetato de etila, diclorometano, heptano, 2-propanol, tetrahidrofurano e tolueno), volume do solvente de dessorção (1, 3 e 5 mL), pH (3,0, 7,0 e 9,0) e adição de cloreto de sódio (0, 5, 10, 15 e 20%).

Para cada parâmetro otimizado, exceto volume de amostra, foi utilizado 150 mL de uma amostra de agua ultrapura fortificada na concentração de 20 ng.mL<sup>-1</sup>, com cada um dos padrões.

A amostra fortificada foi eluida pelo cartucho, utilizando um sistema de filtração à vácuo manifold, em seguida dessorvida com o solvente de dessorção que, posteriormente, foi evaporado com fluxo de nitrogênio gasoso. Os analitos extraídos foram solubilizados em 1 mL de uma solução H<sub>2</sub>O:Acetonitrila 50:50(v/v) e analisados por LC de acordo com método definido, para calcular a taxa de recuperação dos analitos.

# 4.5.4 VALIDAÇÃO ANALÍTICA DO PROCESSO DE EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA

A validação analítica foi realizada de acordo com os critérios estabelecidos no manual de garantia da qualidade analítica do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento sobre validação de métodos analíticos de resíduos e contaminantes em alimentos (BRASIL - MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO, 2011).

#### 4.5.4.1 Linearidade

A linearidade do método SPE/LC-UV desenvolvido foi avaliada por meio de amostras branco de referência, fortificadas com as triazinas em estudo nas concentrações de: 0,5, 1,0, 5,0, 10,0, 20,0 e 50,0 ng.mL<sup>-1</sup>. Para cada ponto da curva o método SPE/LC-UV foi avaliado em triplicata, onde cada replicada foi injetada no

instrumento de medição analítica duas vez, sendo o valor médio e seus respectivos desvios considerados para a construção da curva analítica.

#### 4.5.4.2 Recuperação

Para os cálculos de recuperação, três níveis de concentração de matriz branca fortificada foram avaliados: baixa (0,5 ng.mL<sup>-1</sup>), média (10,0 ng.mL<sup>-1</sup>) e alta (50,0 ng.mL<sup>-1</sup>). A recuperação absoluta foi estimada segundo a equação:

$$\% Rec = \frac{m_{f} - m_{nf}}{m_{ad}}.100$$

Onde:

m<sub>f</sub> = massa medida após fortificação da matriz branca;

m<sub>nf</sub> = massa medida na matriz branca não fortificada;

 $m_{ad}$  = massa do analito puro adicionado à matriz branca.

#### 4.5.4.3 Precisão Inter-Ensaio

A precisão inter-ensaio representa o grau de repetibilidade entre os resultados de análises individuais, quando o procedimento é aplicado diversas vezes sobre a mesma amostra, amostras idênticas ou padrões, utilizando o mesmo método,

mesmo laboratório, mas alterando algumas condições, tais como: dias de análise, analistas, equipamentos e condições ambientais, entre outras, se necessário.

A repetibilidade do método foi determinada em dias diferentes (precisão interensaio) e a precisão expressa pelo coeficiente de variação (C.V.), não sendo aceito valores superiores a 15%. Foram realizadas 5 extrações em dias consecutivos em três níveis de concentrações: baixa (0,5 ng.mL<sup>-1</sup>), média (10,0 ng.mL<sup>-1</sup>) e alta (50,0 ng.mL<sup>-1</sup>).

#### 4.5.4.4 Limite de Quantificação

O limite de quantificação (LOQ) foi determinado por meio de extrações de amostras de água branco de referência, enriquecidas com soluções em concentrações decrescentes dos analitos.

Os critérios adotados para estabelecer o limite de quantificação foram os seguintes: sinal analítico dos analitos dez vezes maior que o ruído de linha de base do cromatograma e coeficiente de variação inferior a 20%.

O LOQ teórico foi determinado com base em parâmetros da curva analítica (SHRIVASTAVA; GUPTA, 2011):

$$LOQ = 10 \times \frac{s}{S}$$

onde s é a estimativa do desvio padrão do coeficiente linear da equação e S é o coeficiente angular da curva analítica.

#### 4.5.4.5 Limite de Detecção

O limite de detecção (LOD) foi determinado por meio de extrações de amostras de água branco de referência, enriquecidas com soluções em concentrações decrescentes dos analitos.

O método adotado para estabelecer o limite de detecção foi com base em parâmetros da curva analítica (SHRIVASTAVA; GUPTA, 2011):

$$LOD = 3 \times \frac{s}{S}$$

onde s é a estimativa do desvio padrão do coeficiente linear da equação e S é o coeficiente angular da curva analítica.

### 5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

# 5.1 SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DOS MONOLITOS STY/DVB

Os polímeros monolíticos estireno-divinilbenzeno (Sty-DVB) foram preparados por meio da reação de polimerização em massa e polimerização em emulsão de alta fase interna, sendo a mistura reacional composta por dois monômeros vinílicos, o estireno (Sty) e o divinilbenzeno (DVB). O DVB é responsável pela formação das ligações cruzadas, pelo aumento da resistência mecânica do polímero e pela insolubilidade em qualquer meio. A reação de síntese do copolímero estirenodivinilbenzeno por ambos os métodos de síntese pode ser vista na Figura 8.

## FIGURA 8: REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DA REAÇÃO DE SÍNTESE DO MONOLITO ESTIRENO E DIVINILBENZENO.



copolímero monolítico estireno/divinilbenzeno

Para a confirmação da estrutura química do monolito estireno-divinilbenzeno, primeiramente purificou-se a amostra com metanol, objetivando remover os resíduos de monômeros, iniciador e diluentes. Depois das amostras purificadas e secas, as mesmas foram submetidas à análise por espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourrier (FTIR).

As Figuras 9 e 10 apresentam os espectros na região do infravermelho obtidos para os monolitos sintetizados via polimerização e massa e via polimerização em emulsão de alta fase interna, respectivamente. Pode-se notar que as bandas de absorção na região do infravermelho das diferentes amostras, independente da técnica de polimerização, foram bem semelhantes uma vez que os precursores monoméricos foram os mesmos. A Tabela 6 apresentam as bandas de absorção referentes aos espectros das Figuras 9 e 10.

### FIGURA 9 ESPECTRO FTIR DOS MONOLITOS: M1-THF/ISOPROPANOL; M2-TOLUENO/ISOPROPANOL; M3-THF/DECANOL; M4-TOLUENO/DECANOL; M5-TOLUENO/HEPTANO.



Fonte: Do autor

FIGURA 10 ESPECTRO FTIR DOS MONOLITOS E01 (SEM DILUENTE, 3000 rpm), E02 (TOLUENO, 3000 rpm) e E03 (TOLUENO, 10000 rpm).



Fonte: Do autor

# TABELA 6 BANDAS DE ABSORÇÃO NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO DOS MONOLITOS STY-DVB.

Banda de Absorção (cm <sup>-1</sup> )	Evento
3025	Estiramento simétrico de C-H do anel aromático
2923	Estiramento simétrico de C-H do grupo CH <sub>2</sub>
1601	Estiramento vibracional de C=C do anel aromático
1492 e 1451	Deformação angular no plano de C-H de alceno
900	Deformação angular fora do plano do grupo vinil
755 e 702	Deformação angular fora do plano de =C-H

A espectroscopia na região do infravermelho confirmou a estrutura química do copolímero, pela presença de bandas de absorção, listadas na Tabela 6, que são características do copolímero Sty-DVB (ZIPPI; KABALKA, 1996).

### 5.1.1 MONOLITOS STY/DVB VIA POLIMERIZAÇÃO EM MASSA

As imagens (a) e (b) mostradas na Figura 11 são dos polímeros monolíticos sintetizados via polimerização em massa M01 (THF/Isopropanol) е M02 (Tolueno/Isopropanol), respectivamente, onde foi utilizado como diluente não solvatante o Isopropanol. Podemos verificar que esses polímeros apresentaram duas fases após o processo de síntese: uma fase opaca característica de material poroso e uma fase amarela translúcida (superior) que é característico de uma estrutura não porosa (COUTINHO; RABELO, 1992). Essa separação de fases pode ter ocorrido devido a esse diluente ser mais volátil podendo ter havido evaporação do mesmo, diminuindo assim a sua concentração na mistura reacional, ficando na parte livre do cartucho, como vapor. Isso favoreceu a formação de um material não poroso na superfície. Nesses materiais notamos também rachaduras, que geram canais preferenciais para a passagem de amostra, o que os inviabilizam para utilização em extração em fase sólida.

As imagens (c) e (d) na Figura 11 são relativas aos polímeros monolíticos M03 (THF/decanol) e M04 (Tolueno/decanol), respectivamente, sintetizados empregando como diluente não solvatante o decanol. Podemos verificar, nas imagens, que esses polímeros apresentam uma fase sólida homogênea opaca que é característica de polímero poroso. Esse material mostrou-se viável para utilização em extração em fase sólida.

A imagem (d) na Figura 11 é relativa ao monolito M05 (Tolueno/Heptano). Percebe-se que esse polímero apresenta uma única fase branca que é característica FIGURA 11 FOTOGRAFIA DOS MONOLÍTICOS: (A) M1-THF/ISOPROPANOL; (B) M2-TOLUENO/ISOPROPANOL; (C) M3-THF/DECANOL; (D) M4-TOLUENO/ DECANOL; (E) M5-TOLUENO/HEPTANO.



Fonte: Do autor

do material poroso. Podemos verificar também que esse material, após a secagem, apresentou grandes rachaduras, que geram canais preferenciais para a passagem de amostra, o que o inviabiliza em extração em fase sólida.

Os monolitos que apresentaram viabilidade para a aplicação de extração em fase sólida, M03 (THF/decanol) e M04 (Tolueno/decanol) foram caracterizados por adsorção/dessorção de nitrogênio utilizando o método BET para obtenção da área superficial específica e caracterizados por microscopia eletrônica de varredura (MEV) objetivando uma visualização morfológica da estrutura porosa do material.

Os valores de área superficial específica obtidos foram de 0 m<sup>2</sup>.g<sup>-1</sup> para o monolito M03 e 0,46 m<sup>2</sup>.g<sup>-1</sup> para o monolito M04. A adsorção de nitrogênio utilizando o método BET é aplicada na caracterização de materiais micro e mesoporosos, apresentando limitação para a caracterização de macroporos (TEIXEIRA; COUTINHO; GOMES, 2001). A baixa área superficial para os monolitos M03 e M04,

indica pequena tendência à micro e mesoporosidade, sugerindo, portanto, uma estrutura macroporosa.

A morfologia da estrutura macroporosa pode ser melhor observada nas imagens de microscopia eletrônica de varredura, apresentadas nas Figuras 12 e 13, para os materiais monolíticos M03 e M04, respectivamente. As imagens foram obtidas em uma região de fratura, para verificação da parte interna do material. Em ambas as imagens, percebe-se que a estrutura morfológica dos monolitos poliméricos orgânicos é formada por aglomerados (domínios) da ordem de 5  $\mu$ m e entre estes se encontram os canais, confirmando a macroporosidade do material. O monolito M03, apresentou canais da ordem de 10-20  $\mu$ m, enquanto que os canais do monolito M04 da ordem de 5  $\mu$ m. A presença de canais maiores no monolito M03, resulta em menor resistência a vazão, com isso, o mesmo foi selecionado para avaliação como fase extratora.

FIGURA 12 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA DO MONOLITO M3- THF/DECANOL COM AUMENTO DE (A) 1500X E (B) 3000X.



Fonte: Do autor
FIGURA 13 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA DO MONOLITO M4- TOLUENO/DECANOL COM AUMENTO DE (A) 1500X E (B) 3000X.



Fonte: Do autor

# 5.1.2 MONOLITOS STY/DVB VIA POLIMERIZAÇÃO EM EMULSÃO DE ALTA FASE INTERNA

Os monolitos foram caracterizados por adsorção/dessorção de nitrogênio utilizando o método BET para obtenção da área superficial específica e o método BJH para obtenção do volume de poros e diâmetro de poros. A Figura 14 mostra as isotermas de adsorção e dessorção de nitrogênio na temperatura de 77 K, para os monolitos preparados via polimerização em emulsão de alta fase interna. As isotermas apresentadas para todos os monolitos são do tipo III, que é típica de material onde as moléculas do nitrogênio apresentam maior interação entre si do que com o sólido. As histereses apresentadas são do tipo H3 que é associada a agregados não rígidos de partículas em forma de placas, que foram originadas pelos poros interconectados (gargantas de poros). Verificamos que o volume máximo adsorvido para o monolito E02 (Tolueno, 3000 rpm) é consideravelmente maior quando comparado aos monolitos E03 (Tolueno, 10000 rpm) e E01 (Sem diluente, 3000 rpm). Isso nos leva a concluir que a presença do tolueno no monolito E02 é mais significativa para a macroporosidade do material do que a redução da porosidade pelo aumento da velocidade de agitação.

## FIGURA 14 ISOTERMAS DE ADSORÇÃO/DESSORÇÃO DE NITROGÊNIO PARA OS MONOLITOS E01 (SEM DILUENTE, 3000 rpm), E02 (TOLUENO, 3000 rpm) e E03 (TOLUENO, 10000 rpm).



Fonte: Do autor

Um fator importante para a formação de polímeros porosos é a presença de um diluente de solvatação das cadeias poliméricas. Os monolitos E02 e E03 foram preparados na presença do diluente solvatante, tolueno. Na Tabela 7 podemos verificar que a presença do diluente produziu monolitos com maior área superficial e poros maiores, e que o monolito E01 preparado na ausência do diluente foi o que obteve menor área superficial e menor volume e diâmetro de poros.

A agitação é um fator muito importante na formação da emulsão. Quanto maior a agitação, mais estável é a emulsão formada, e consequentemente menor são as gotas da fase aquosa interna (TEBBOTH; KOGELBAUER; BISMARCK, 2015). A velocidade de agitação no monolito E03 (10000 rpm) foi maior quando comparado com E02 (3000 rpm), onde ambos foram preparados na presença do tolueno, com isso, podemos verificar na Tabela 7, uma menor área superficial e menor volume de poros para o monolito E03.

Verificamos, de acordo com os resultados da Tabela 7, que o efeito do solvente é mais significativo para o aumento da área superficial e do volume e diâmetro médio de poros do que o efeito da redução desses pelo aumento da velocidade. Com isso, temos o monolito E02 (Tolueno, 3000 rpm) com maior área superficial e volume e diâmetro médio de poros, seguido pelo monolito E03 (Tolueno, 10000 rpm) e depois pelo monolito E01 (Sem diluente, 3000 rpm).

	E01	E02	E03
S <sub>BET</sub> (cm <sup>3</sup> .g <sup>-1</sup> )	37	114	55
V <sub>p</sub> (cm <sup>3</sup> .g <sup>-1</sup> )	0,08	0,27	0,13
D <sub>p</sub> (Å)	53	61	69

TABELA 7 ÁREA SUPERFICIAL, VOLUME E DIÂMETRO DE POROS PARA OS MONOLITOS E01 (SEM DILUENTE, 3000 rpm), E02 (TOLUENO, 3000 rpm) e E03 (TOLUENO, 10000 rpm)

Fonte: Do autor

Na Figura 15 temos o gráfico de volume de poros em função da distribuição do diâmetro médio de poros. Verificamos que nas regiões de microporos (<20 Å) e mesoporos (20-500 Å), há um aumento do volume de poros a medida que se aproxima da região de macroporos. Verificamos que o gráfico mostra um perfil de porosidade tendendo a macroporosidade para os monolitos preparados na presença do tolueno, E02 e E03, enquanto que o monolito E01, que foi preparado na ausência de diluente não solvatante, tende a um máximo de distribuição de poros em aproximadamente 100 Å.

# FIGURA 15 CURVA DE DISTRIBUIÇÃO DO DIÂMETRO MÉDIO DE POROS PARA OS MONOLITOS E01 (SEM DILUENTE, 3000 rpm), E02 (TOLUENO, 3000 rpm) e E03 (TOLUENO, 10000 rpm).



Fonte: Do autor

As Figuras 16, 17 e 18 mostram as imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura para os monolitos E1 (Sem diluente, 3000 rpm), E2 (Tolueno, 3000 rpm) e E3 (Tolueno, 10000 rpm), respectivamente, preparados via polimerização em emulsão de alta fase interna.

O monolito E1 foi preparado sem a presença do diluente formador de poros e o monolito E2 na presença do diluente formador de poros. Podemos perceber que no monolito E1 os poros não se mostraram muito definidos e foram da ordem de 5  $\mu$ m e as gargantas de poro de 2  $\mu$ m. Já no monolito E2 a presença do diluente resultou em uma estrutura de poros bem definida com poros da ordem de 10  $\mu$ m e as gargantas de poros de 4  $\mu$ m. A presença do diluente tolueno, resultou em poros e gargantas de poros maiores o que deixou o material com canais maiores, resultando em uma menor resistência a vazão.

O monolito E3 também foi preparado na presença do diluente, porém a velocidade de agitação para a formação da emulsão foi maior que no monolito E2 resultando em poros da ordem de 2  $\mu$ m e as gargantas de poros menores que 1  $\mu$ m, resultando em um aumento na resistência a vazão. Essa redução dos poros é resultado do aumento da estabilidade da emulsão (TEBBOTH; KOGELBAUER; BISMARCK, 2015).

As imagens de microscopia eletrônica de varredura mostram mais claramente a macroporosidade dos monolitos preparados via polimerização em emulsão de alta fase interna e corroboram com os resultados de adsorção/dessorção de nitrogênio. FIGURA 16 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA DO MONOLITO E1- SEM DILUENTE COM AUMENTO DE (A) 7000X (B) 4000X E (C) 1500X



Fonte: Do autor

FIGURA 17 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA DO MONOLITO E02- TOLUENO/3000 rpm COM AUMENTO DE (A) 7000X (B) 4000X E (C) 1500x



FIGURA 18 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA DO MONOLITO E3- TOLUENO/10000 rpm COM AUMENTO DE (A) 7000X (B) 4000X E (C) 1500x.



Fonte: Do autor

### 5.2 SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DO MONOLITO E02/PPY

Visando avaliar a seletividade dos monolitos polimerizados frente às técnicas de preparo de amostra, o monolito E02 foi submetido a uma etapa de modificação com o recobrimento da superfície com filmes de polipirrol, resultando no monolito denominado E02/PPY. O monolito E02 (Tolueno, 3000 rpm) foi selecionado para a modificação química, pois apresentou menor resistência a vazão.

A Figura 19 mostra os espectros na região do infravermelho para o monolito E02 e para o monolito modificado com polipirrol, E02/PPY. A espectroscopia na região do infravermelho confirmou a presença de polipirrol, pelas bandas de absorção características do polipirrol, apresentadas na Tabela 8 (WAGHULEY et al., 2008), (CETINER et al., 2010).



### FIGURA 19 ESPECTRO FTIR DOS MONOLITOS E02 E E02/PPY

Fonte: Do autor.

Banda de Absorção (cm <sup>-1</sup> )	Evento			
1559	Estiramento simétrico de C-C do anel polipirrol			
1488	Estiramento simétrico de C-N do anel polipirrol			
1296 e 1040	Estiramento vibracional no plano de =C-H do anel polipirrol			
1209	Estiramento simétrico de C-N			
927	Estiramento vibracional fora do plano de C-H do anel polipirrol			

# TABELA 8 BANDAS DE ABSORÇÃO NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO DO MONOLITO E02/PPY.

Fonte: Do autor.

Os monolitos E02 e E02/PPY foram caracterizados por adsorção/dessorção de nitrogênio utilizando o método BET para obtenção da área superficial específica e o método BJH para obtenção do volume de poros e diâmetro de poros. De acordo com os dados da Tabela 9, Figura 20 e Figura 21, verificamos redução da área superficial indicando que houve recobrimento da superfície do monolito com o polipirrol.

# TABELA 9 ÁREA SUPERFICIAL, VOLUME E DIÂMETRO DE POROS PARA OS MONOLITOS E02 E E02/PPY

	E02	E2/PPY
S <sub>BET</sub> (cm <sup>3</sup> .g <sup>-1</sup> )	114	89
V <sub>p</sub> (cm <sup>3</sup> .g <sup>-1</sup> )	0,27	0,30
D <sub>p</sub> (Å)	61	89

Fonte: Do autor

# FIGURA 20 ISOTERMAS DE ADSORÇÃO/DESSORÇÃO DE NITROGÊNIO PARA OS MONOLITOS E02 E E02/PPY



Fonte: Do autor

# FIGURA 21 CURVA DE DISTRIBUIÇÃO DE DIÂMETRO MÉDIO DE POROS PARA OS MONOLITOS E02 E E02/PPY



Fonte: Do auto

A Figura 22 ilustra o cartucho contendo os monolitos E02 e E02/PPY. A coloração preta é característica do polipirrol, mostrando que o recobrimento foi efetivo, tanto externamente, como mostrado na imagem (a) como internamente (b). Fato que é corroborado pelos dados de adsorção/dessorção de nitrogênio.

### FIGURA 22 FOTOGRAFIA DO CARTUCHO SPE (A) MONOLITOS E02 E E02/PPY E (B) PARTE INTERNA DO MONOLITO E02/PPY



Fonte: Do autor.

Na Figura 23 estão apresentadas as imagens de microscopia eletrônica de varredura para o monolito E02/PPY. Podemos verificar o recobrimento efetivo pela presença de grânulos que não estavam presentes no monolito E02 (Figura 17) e que estão presentes no monolito E02/PPY.

FIGURA 23 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA DO MONOLITO E02/PPY (A) 7000X (B) 4000X E (C) 1500X



Fonte: Do autor

# 5.3 CONDIÇÕES CROMATOGRÁFICAS LC-UV

Para obter sensibilidade analítica adequada à análise das triazinas, a resposta do detector ultravioleta foi avaliada e o comprimento de onda de 228 nm foi selecionado para análise simultânea das triazinas em estudo.

A ordem de eluição dos herbicidas triazínicos foi determinada por injeções individuais dos padrões e seus respectivos tempos de retenção são ilustrados na Tabela 10. Para a resolução cromatográfica dos herbicidas, uma solução contendo a mistura da solução padrão de todas as triazinas, em estudo, na mesma concentração foi injetada em triplicata, o cromatograma resultante é ilustrado na Figura 24.

Triazina	Tempo de Retenção (min)
Simazina	7,0
Simetrina	9,1
Atrazina	10,4
Ametrina	15,8
Propazina	17,3
Prometrina	23,2
Terbutrina	24,2
Fonte: Do autor.	

TABELA 10 ORDEM DE ELUIÇÃO DAS TRIAZINAS E SEUS RESPECTIVOS TEMPOS DE RETENÇÃO.

# FIGURA 24 CROMATOGRAMA REFERENTE À ANALISE SIMULTÂNEA DA SOLUÇÃO PADRÃO DAS TRIAZINAS NA CONCENTRAÇÃO DE 1,0 ng.mL<sup>-1</sup>.



Fonte: Do autor.

#### 5.4 MONOLITOS STY/DVB COMO FASE EXTRATORA PARA DPX

Foram produzidas cinco fases monoliticas via polimerização em massa. As que apresentaram viabilidade para uso como fase extratora para preparo de amostra foram as formulações M03 (THF/decanol) e M04 (Tolueno/decanol). O monolito M03, por apresentar canais maiores resultou em uma menor resistência a vazão e por isso foi selecionada como fase extratora para DPX. O dispositivo DPX contendo a fase monolítica M03 foi avaliado para extração de herbicidas triazínicos (ametrina,

atrazina, prometrina, propazina, simazina, simetrina e terbutrina) em amostras de água branco de referência.

A Figura 25 mostra a imagem das ponteiras de pipeta contendo a fase monolítica M03. A massa de fase presente na ponteira foi de 19 mg, sendo reprodutível, uma vez que o volume da mistura reacional adicionada à ponteira é quantitativa.

# FIGURA 25 FOTOGRAFIA DO DISPOSITIVO DPX UTILIZADO PARA O PREPARO DE AMOSTRA



Fonte: Do autor

Para avaliar a eficiência da fase extratora, as variáveis do processo de extração otimizadas foram: volume de amostra (500, 750, 1000, 1500 e 2000  $\mu$ L), solvente de dessorção (acetonitrila, metanol e acetato de etila) e volume de solvente de dessorção (250, 750, 1000, 1250 e 1500 $\mu$ L) foram otimizados. Todos os parâmetros de otimização foram realizados em triplicata. Os extratos foram secos com nitrogênio gasoso e em seguida solubilizados em 500  $\mu$ L de uma mistura 50:50 de água:acetonitrila e posteriormente injetados no cromatógrafo.

Para otimizar o solvente de dessorção, 1000  $\mu$ L de uma amostra de água branco de referência fortificada com os herbicidas em estudo na concentração de 10 ng.mL<sup>-1</sup> foi eluido pela ponteira contendo a fase. Em seguida os analitos foram dessorvidos com 1000  $\mu$ L de solvente. Os solventes avaliados foram: acetonitrila, metanol e acetato de etila. Dentre os solventes avaliados, o acetato de etila apresentou maior eficiência de extração, evidenciada pela maior área do pico, para a maioria dos herbicidas, conforme pode ser observado no gráfico apresentado na Figura 26.

# FIGURA 26 OTIMIZAÇÃO DO SOLVENTE DE DESSORÇÃO DO MÉTODO DPX/LC-UV PARA ANÁLISE SIMULTÂNEA DAS TRIAZINAS



Fonte: Do autor

A eluição do analito ocorre melhor com um solvente com a maior força eluotrópica em relação a fase extratora utilizada, e que apresente compatibilidade com a instrumentação analítica para a determinação final, para facilitar o processo de automação. Para otimizar o volume de solvente de dessorção, 1000 μL de uma amostra fortificada com os herbicidas de estudo na concentração de 10 ng.mL<sup>-1</sup> foi eluido pela fase. Em seguida os analitos foram dessorvidos com acetato de etila e os volumes de 250, 750, 1000 e 1500µL foram avaliados para maior eficiência do método DPX proposto. Conforme pode ser observado no gráfico da Figura 27, a maior área dos picos cromatográficos para a maioria dos herbicidas avaliados foi obtido com dessorção em 750 µL de acetato de etila.

## FIGURA 27 OTIMIZAÇÃO DO VOLUME DE SOLVENTE DE DESSORÇÃO DO MÉTODO DPX/LC-UV PARA ANÁLISE SIMULTÂNEA DAS TRIAZINAS



Fonte: Do autor

Por último foi otimizado o volume de amostra eluindo a amostra fortificada com os herbicidas de estudo na concentração de 10 ng.mL<sup>-1</sup>. Os analitos foram dessorvidos com 750 µL de acetato de etila. Segundo os volumes de amostra avaliados (500, 750, 1000, 1500 e 2000 µL) a maior porcentagem de recuperação para a maioria dos herbicidas, foi obtida em 1000 µL de amostra. Volumes de amostras maiores que 1000 µL apresentaram recuperação inferior, como mostrado na Figura 28, indicando dessorção dos analitos pela amostra.

## FIGURA 28 OTIMIZAÇÃO DO VOLUME DE AMOSTRA DO MÉTODO DPX/LC-UV PARA ANÁLISE SIMULTÂNEA DAS TRIAZINAS



Fonte: Do autor

Desta forma, as condições otimizadas para processo de extração DPX empregando como fase extratora o monolito M03 (Sty-DVB preparado via polimerização em massa na presença de THF e decanol) em ponteira descartável de pipeta foram 1000 µL de amostra de água branco de referência fortificada com os herbicidas de estudo na concentração de 10 ng.mL<sup>-1</sup> e dessorção com 750 µL de acetato de etila. Nas condições otimizadas, o fator de concentração da técnica foi de 2x e a recuperação absoluta para as triazinas foi de: 64% para a simazina, 49% para a simetrina, 54% para a atrazina, 38% para a ametrina, 28% para a propazina, 33% para a prometrina e 35% para a terbutrina.

Para aumentar o fator de concentração um volume maior de amostra em concentração inferior a estudada deve ser realizado. Porém, não foi possível o estudo devido a baixa permeabilidade, resultando em fluxo de análise menor que 1 mL.min<sup>-1</sup>, o que levaria a um tempo de preparo de amostra muito longo.

Estudos em concentrações inferiores não foram realizados, pois o fator de concentração da técnica para as condições otimizadas foi de duas vezes e concentrações menores estavam abaixo do limite de quantificação da análise por LC-UV.

O método DPX/LC-UV não foi validado pois apresentou baixa sensibilidade analítica.

#### 5.5 MONOLITOS STY/DVB COMO FASE EXTRATORA PARA SPE

Os monolitos avaliados como fases extratoras para cartucho SPE foram os sintetizados via polimerização em emulsão de alta fase interna. O monolito E03 apresentou uma baixa permeabilidade da amostra limitando o fluxo de extração a 3 mL.mim<sup>-1</sup>, aumentando o tempo de análise, o inviabilizando para o método proposto. Os monolitos E01, E02 e E02/PPY, apresentaram limite de fluxo de extração de 15 mL.min<sup>-1</sup>, sendo portanto selecionados para serem avaliados como fase extratora para o método SPE.

Em cartuchos comerciais de 6 mL a massa de fase extratora varia de 500 a 1000mg. Como exemplo desses cartuchos contendo estireno-divinilbenzeno como fase extratora podemos citar: BOND ELUT PLEXA<sup>®</sup> (Agilent) possui 500 mg de fase; ENVI-CHROM P<sup>®</sup> (Supleco) possui 500 mg de fase com poros de 110-175 Å; SAMPLIQ PS-DVB<sup>®</sup> (Agilent) possui 1000 mg de fase com área superficial de 600m<sup>2</sup>.g<sup>-1</sup> e tamanho de partículas 75-160 μm

A massa de fase extratora empregada nos cartuchos foi de 200 mg, inferior à massa dos cartuchos comerciais. A fase de fase presente no cartucho é reprodutível, uma vez que o volume de emulsão adicionado ao cartucho é quantitativo.

# 5.5.1 EFICIÊNCIA DA FASE EXTRATORA PARA O MÉTODO SPE

Para a avaliação da eficiência de extração SPE das fases monolíticas selecionadas, as variáveis intrínsecas ao método SPE (vazão, volume de amostra, pH da amostra, solvente de dessorção e volume do solvente de dessorção) foram mantidas constantes e somente a fase extratora foi modificada.. Os monolitos E01, E02 e E02/PPY foram utilizados para verificar a eficiência de extração de 200 mL de uma amostra de água branco de referência fortificada com os herbicidas triazínicos já mencionados anteriormente, na concentração de 20 ng.mL<sup>-1</sup>. O fluxo de extração foi de 2 mL.min<sup>-1</sup>, os analitos extraídos foram dessorvidos com 5 mL de acetato de etila.

O gráfico da Figura 29 mostra os valores de recuperação absolutos dos analitos nas diferentes fases extratoras avaliadas. O monolito E02 apresentou uma maior eficiência de extração, quando comparado ao monolito E01, como mostrado no gráfico da Figura 29, que pode ser atribuído a maior área superficial devido à presença do diluente tolueno, durante o processo de síntese. Podemos verificar uma maior porcentagem de recuperação e consequentemente uma maior eficiência de extração de síntese o pole ser atribuído da sinterações do tipo ácido-base e  $\pi$  -  $\pi$  entre o polipirrol da fase extratora e o soluto.

Conforme resultados apresentados na Figura 29, fica evidenciada a melhor eficiência de extração para o monolito E02/PPY, assim sendo, o mesmo foi selecionado para otimizar e validar o método de extração.

# FIGURA 29 EFICIÊNCIA DE EXTRAÇÃO DAS FASES E01, E02 E E02/PPY PARA O MÉTODO SPE/LC-UV PARA ANÁLISE SIMULTÂNEA DAS TRIAZINAS



Fonte: Do autor

#### 5.5.2 REUSO DA FASE EXTRATORA E02/PPY

Para avaliar a possibilidade de reutilização do cartucho contendo a fase E02/PPY, foi realizada uma etapa de limpeza eluindo 5 mL de metanol grau HPLC. Após a limpeza, foi verificado que não houve a presença de sinal analítico relativos aos picos de interesse, indicando o seu reuso.

Foi avaliado e eficiência de extração do cartucho E02/PPY após 10 extrações. Os valores de recuperação absoluta dos herbicidas e os coeficientes de variação estão ilustrados na Tabela 11.

Triazina	Recuperação Absoluta 1ª Extração (%)	Recuperação Absoluta Após 10 Extrações (%)	C.V. (%)
Simazina	75,9	66,0	9,9
Simetrina	86,5	77,4	7,8
Atrazina	86,7	78,3	7,2
Ametrina	81,0	75,5	5,0
Propazina	73,3	71,7	1,6
Prometrina	80,1	82,9	2,4
Terbutrina	84,4	82,8	1,4

# TABELA 11 RECUPERAÇÃO ABUSOLUTA E COEFICIENTE DE VARIAÇÃO DO CARTUCHO E02/PPY APÓS 10 EXTRAÇÕES

Fonte: Do autor

A ausência de sinal analítico relativos aos picos de interesse após a etapa de limpeza e coeficiente de variação de recuperação absoluta abaixo de 15% após 10 extrações no cartucho indicam que a fase extratora pode ser reutilizada sem perda de sua eficiência.

# 5.5.3 OTIMIZAÇÃO DO MÉTODO DE EXTRAÇÃO SPE

As variáveis do processo de extração otimizadas foram: fluxo de extração, volume de amostra, solvente de dessorção, volume de solvente de dessorção e adição de sal (NaCl). Todos os parâmetros de otimização foram realizados em triplicata. O extrato foi seco com nitrogênio gasoso e em seguida resuspendido em 1 mL de uma mistura 50:50 (v/v) de água:acetonitrila.

Para garantir resultados reprodutivos, a velocidade de eluição da amostra pelo cartucho (fluxo de extração) deve ser quantitativa. O fluxo de extração através dos cartuchos é um fator muito importante, uma vez que diminui o tempo de preparo das amostras e, consequentemente, de análise. Em contrapartida, altos fluxos podem diminuir o tempo de equilíbrio necessário na adsorção, levando à diminuição na eficiência da recuperação dos compostos estudados (CAVALCANTE et al., 2007).

Para otimizar o fluxo de extração, foi eluido 150 mL de uma amostra de água branco de referência fortificada com os herbicidas de estudo na concentração de 20 ng.mL<sup>-1</sup>, os analitos foram dessorvidos com 5 mL de acetato de etila. Os fluxos de extração avaliados foram: 2, 6, 10 e 15 mL.min<sup>-1</sup>. O fluxo que obteve uma maior porcentagem de recuperação para todos os herbicidas, foi o de 10 ml.min<sup>-1</sup>, onde o tempo de equilíbrio de adsorção foi favorecido (Figura 30).

# FIGURA 30 OTIMIZAÇÃO DO FLUXO DE EXTRAÇÃO DO MÉTODO SPE/LC-UV PARA ANÁLISE SIMULTÂNEA DAS TRIAZINAS





A eluição do analito ocorre melhor com um solvente com a maior força eluotrópica em relação a fase extratora utilizada, minimizando assim o volume total de eluição e maximizando o efeito de concentração. No entanto, outras considerações, como a compatibilidade do solvente com a instrumentação analítica para a determinação final, ou a necessidade de reduzir manipulação de amostras adicionais, tais como troca de solvente, pode ditar a seleção de solvente. (WELLS, 2000). Para otimizar o solvente de dessorção, foi eluido, no fluxo de 10 ml.min<sup>-1</sup>, 150 mL de uma amostra de água branco de referência fortificada com os herbicidas em estudo na concentração de 20 ng.mL<sup>-1</sup>. Os analitos foram dessorvidos com 5 mL de solvente. Os solventes de extração avaliados foram: acetato de etila, diclorometano, heptano, 2-propanol, tetrahidrofurano e tolueno. A força eluotropica (ε<sup>o</sup>) de cada um desses está ilustrada na Tabela 12.

Solvente	ε <sup>0</sup>
Acetato de Etila	0,45
Diclorometano	0,32
Heptano	0,00
2-Propanol	0,63
Tetrahidrofurano	0,35
Tolueno	0,22

# TABELA 12 SÉRIE ELUOTRÓPICA UTILIZADA NA SELEÇÃO DO SOLVENTE DE DESSORÇÃO

Fonte: adaptada de (LANÇAS, 2004)

A Figura 31 mostra os dados de recuperação absoluta para os herbicidas, obtidos com cada um dos solventes utilizados para otimizar o solvente de dessorção. De acordo com os resultados da Figura 31 as porcentagens de recuperação, em função do uso do solvente, para a maioria dos herbicidas diminui com seguinte ordem: THF>diclorometano>2-propanol>acetato de etila>tolueno> heptano.

### FIGURA 31 OTIMIZAÇÃO DO SOLVENTE DE DESSORÇÃO DO MÉTODO SPE/LC-UV PARA ANÁLISE SIMULTÂNEA DAS TRIAZINAS



#### Fonte: Do autor

Apesar do THF se mostrar o melhor solvente para dessorção dos analitos, ele também extraiu polipirrol da fase, o que resulta em perda da eficiência da fase, inviabilizando a reutilização do cartucho. O diclorometano também se mostrou um bom solvente de dessorção para os analitos, no entanto um solvente ruim para a fase extratora uma vez que tornou o monolito E2/PPY quebradiço. O 2-propanol se apresentou inviável, pois formou azeótopo com a água tornando a etapa de secagem do extrato demorada. Com isso o solvente selecionado para estudos posteriores foi o acetato de etila.

Para otimizar o volume do solvente de dessorção, foi eluido, no fluxo de 10 mL.min<sup>-1</sup>, 150 mL de uma amostra de água branco de referência fortificada com os herbicidas de estudo na concentração de 20 ng.mL<sup>-1</sup>. Empregando acetato de etila como solvente de dessorção os volumes de 1, 3 e 5 mL foram avaliados para obtenção de máxima eficiência de dessorção em menor tempo de análise. O volume de solvente que obteve a maior porcentagem de recuperação para os herbicidas, foi a dessorção com 5 mL de acetato de etila (Figura 32). Volumes maiores que 5 mL

não foram avaliados para reduzir o consumo de solvente e reduzir os efeitos nocivos gerados pelo uso excessivo de solventes orgânicos.

# FIGURA 32 OTIMIZAÇÃO DO VOLUME DE SOLVENTE DE DESSORÇÃO DO MÉTODO SPE/LC-UV PARA ANÁLISE SIMULTÂNEA DAS TRIAZINAS



#### Fonte: Do autor

Para otimizar o pH da amostra, foi eluido, no fluxo de 10 mL.min<sup>-1</sup>, 150 mL de uma amostra de água branco de referência fortificada com os herbicidas de estudo na concentração de 20 ng.mL<sup>-1</sup>. Os valores de pH avaliados foram 3, 7 e 9. Os analitos foram dessorvidos com 5 mL de acetato de etila. De acordo com as porcentagens de recuperação verificamos que o preparo de amostra é pouco dependente do pH, para a maioria do herbicidas, sendo levemente favorecido em pH neutro (Figura 33). Em pH neutro os herbicidas triazínicos encontram-se totalmente na forma não iônica (pKa entre 1,65 e 4,30). Em pH 3,0 o polipirrol está na sua forma protonada e os herbicidas totalmente ou parcialmente na forma iônica. Em pH 9,0 o polipirrol está na sua na forma desprotonada e os herbicidas na forma não iônica (PEI; QIAN, 1991). Esses resultados indicam que o mecanismo de interação

entre os analitos e a fase extratora não é favorecida por mecanismos iônicos e sim por interações  $\pi$ - $\pi$ .

# FIGURA 33 OTIMIZAÇÃO DO pH DA AMOSTRA DO MÉTODO SPE/LC-UV PARA ANÁLISE SIMULTÂNEA DAS TRIAZINAS



Fonte: Do autor

Outro parâmetro a ser avaliado trata-se da adição de sal (força iônica) na matriz aquosa. Com a adição de sal em solução aquosa, as moléculas de água tendem a formar uma esfera de hidratação em volta dos íons do sal, reduzindo a disponibilidade das moléculas de água livres para dissolver o soluto. Dessa forma, a atividade ou a concentração efetiva do soluto em solução aumenta a eficiência do processo SPE. Para solutos na forma não dissociada o efeito "salting out" é esperado. Em contrapartida, com o aumento da força iônica, os íons do sal adicionado podem interagir com o soluto em solução por meio de interações eletrostáticas ou covalentes, diminuindo a difusão do soluto para a fase extratora (WELLS, 2000), (WELLS; RIEMER; WELLS-KNECHT, 1994).

Para otimizar a adição de sal na amostra, 150 mL da amostra de água branco de referência fortificada com os herbicidas em estudo na concentração de 20 ng.mL<sup>-1</sup> foi eluida no fluxo de 10 mL.min<sup>-1</sup> com dessorção em 5 mL de acetato de etila. Foi adicionado na amostra concentrações de 5, 10, 15 e 20% de NaCl (m/m). A concentração de sal de 10% obteve a maior porcentagem de recuperação para a maioria dos analitos (Figura 34). Para concentrações acima de 10%, pode ter havido aumento da viscosidade do meio, diminuindo, portanto, a velocidade de difusão do soluto da amostra para a fase extratora (ALBANIS et al., 1998).

# FIGURA 34 OTIMIZAÇÃO DA ADIÇÃO DE SAL DO MÉTODO SPE/LC-UV PARA ANÁLISE SIMULTÂNEA DAS TRIAZINAS



Sinazina Sineunia Auazina Ameunia PropazinaPromeuniarerbu

Fonte: do autor

Para que se obtenha a eficiência máxima de extração, é necessário determinar o volume máximo de amostra que deve ser utilizado para que se obtenha a maior recuperação possível do analito. Para otimizar o volume de amostra, a amostra de água branco de referência foi fortificada com os herbicidas de estudo na concentração de 20 ng.mL<sup>-1</sup>. Os volumes de amostras avaliados foram: 100, 200,

300 e 500 mL de amostra, com eluição de 10 mL.min<sup>-1</sup> e dessorção com 5 mL de acetato de etila.

O volume de amostra que obteve a maior porcentagem de recuperação, foi de 300 mL. Acima desse volume observou-se a saturação da fase, o que resulta em uma menor porcentagem de recuperação (Figura 35).

# FIGURA 35 OTIMIZAÇÃO DO VOLUME DE AMOSTRA DO MÉTODO SPE/LC-UV PARA ANÁLISE SIMULTÂNEA DAS TRIAZINAS



Fonte: Do autor

Desta forma, segundo parâmetros avaliados a condição otimizada para o processo de extração SPE utilizando como fase extratora o monolito E02/PPY foram: 300 mL de volume de amostra com adição de 10% de cloreto de sódio, fluxo de 10 mL.min<sup>-1</sup>, 5 mL de acetato de etila como solvente de dessorção.

## 5.5.4 VALIDAÇÃO DO MÉTODO SPE/LC-UV

Empregando as condições otimizadas, algumas figuras de mérito foram verificados para o método SPE-LC/UV proposto.

O método SPE/LC-UV proposto foi validado segundo normas estabelecidas no manual de garantia da qualidade analítica do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) sobre validação de métodos analíticos de resíduos e contaminantes em alimentos.

#### 5.5.4.1 Seletividade do método SPE/LC-UV

Segundo o manual de garantia da qualidade analítica do MAPA, a seletividade é a capacidade do procedimento analítico de discriminar entre a substância a analisar e substâncias análogas (isômeros, metabólitos, produtos de degradação, substâncias endógenas, componentes da matriz, isóbaros e componentes que possam gerar interferência poliatômica, entre outras). A verificação da seletividade do procedimento analítico deve ser realizada a partir da comparação entre os sinais (resposta instrumental) advindos do processamento da matriz, do extrato da matriz fortificada e do analito puro em solvente (BRASIL - MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO, 2011).

A seletividade do método SPE/LC-UV é demonstrada por meio dos cromatogramas da água branco de referência fortificado no LOQ, e da água branco de referência ilustrados na Figura 36. Na amostra branco de referência, o sinal analítico dos interferentes no tempo de retenção das triazinas foi inferior a 20% do sinal cromatográfico dos analitos em concentrações correspondentes ao limite de quantificação

### FIGURA 36 CROMATOGRAMA DA AMOSTRA DE ÁGUA BRANCO DE REFERÊNCIA E DA AMOSTRA DE ÁGUA BRANCO DE REFERÊNCIA FORTIFICADA NO LIMITE DE QUANTIFICAÇÃO REFERENTE AO MÉTODO SPE/LC-UV PARA ANÁLISE SIMULTÂNEA DAS TRIAZINAS.



Fonte: Do autor.

## 5.5.4.2 Linearidade do método SPE/LC-UV

A linearidade do método padronizado foi determinada utilizando amostras de água branco de referência fortificadas com os herbicidas de estudo nas concentrações de 0,5, 1, 5, 10, 20 e 50 ng.mL<sup>-1</sup>. Os intervalos avaliados apresentaram-se lineares com coeficientes de correção maiores que 0,982 conforme

Tabela 13. As curvas analíticas obtidas e os gráficos de resíduos podem ser observadas nas Figuras 37, 38, 39, 40, 41, 42 e 43. Nos gráficos de resíduos podemos observar aleatoriedade dos resíduos, mostrando heterocedasticidade.

TABELA 13	LINE	EARIDADE,	LIMITE DE	QUANT	<b>IFICAÇÃO</b>	E COEFICIENT	E DE
VARIAÇÃO	DO	MÉTODO	SPE/LC-U	<b>PARA</b>	ANÁLISE	SIMULTÂNEA	DAS
TRIAZINAS.							

Triazina	Regressão Linear	<b>r</b> 2	LOQ
Παζίπα	0,5-50 ng.mL <sup>-1</sup>	I	(ng.mL <sup>-1</sup> )
Ametrina	y=12561,15+94561,80x	0,996	0,5
Atrazina	y=5158,66+97124,79x	0,997	0,5
Prometrina	y=4168,76+89649,57x	0,999	0,5
Propazina	y=3173,84+94915,30x	0,997	0,5
Simazina	y=43602,19+114061,49x	0,982	0,5
Simetrina	y=6457,17+124632,85x	0,992	0,5
Terbutrina	y=-2058,02+78726,40x	0,993	0,5

Fonte: Do autor.

A faixa de linearidade avaliada no método SPE/LC-UV (0,5-50 ng.mL<sup>-1</sup>) abrange desde os limites de monitoramento ambiental de agua estabelecido pelo CONAMA (<  $2\mu$ g.L<sup>-1</sup>) até os limites máximo residual em alimentos estabelecidos pela ANVISA (0,02-0,25 mg.kg<sup>-1</sup>).

# FIGURA 37 (A) CURVA ANALÍTICA DA AMETRINA E (B) GRÁFICO DE RESÍDUOS DO MÉTODO SPE-LC/UV PARA ANÁLISE SIMULTÂNEA DAS TRIAZINAS

두.	ANOV	4					
			DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Prob>F
L		Model	1	5570,06687	5570,06687	1287,17901	3,60269E-6
	Mean	Error	4	17,30938	4,32734		
		Total	5	5587,37625			





Fonte: Do autor.

FIGURA 38 (A) CURVA ANALÍTICA DA ATRAZINA E (B) GRÁFICO DE RESÍDUOS DO MÉTODO SPE-LC/UV PARA ANÁLISE SIMULTÂNEA DAS TRIAZINAS

F	ANOV	4					
			DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Prob>F
L		Model	1	22309,40048	22309,40048	1881,61598	1,6887E-6
	Mean	Error	4	47,42604	11,85651		
		Total	5	22356,82652			





107

Fonte: Do autor.

FIGURA 39 (A) CURVA ANALÍTICA DA PROMETRINA E (B) GRÁFICO DE RESÍDUOS DO MÉTODO SPE-LC/UV PARA ANÁLISE SIMULTÂNEA DAS TRIAZINAS

F	ANOV	4					
			DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Prob>F
	_	Model	1	782766,5127	782766,5127	65048,89045	1,41784E-9
	Mean Error Total	4	48,13404	12,03351			
		Total	5	782814,64674			





Fonte: Do autor.

.
FIGURA 40 (A) CURVA ANALÍTICA DA PROPAZINA E (B) GRÁFICO DE RESÍDUOS DO MÉTODO SPE-LC/UV PARA ANÁLISE SIMULTÂNEA DAS TRIAZINAS

Ξ	ANOVA						
			DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Prob>F
Ц		Model	1	11832,7397	11832,7397	1700,76527	2,06615E-6
	Mean	Error	4	27,82921	6,9573		
		Total	5	11860,56891			





Fonte: Do autor.

FIGURA 41 (A) CURVA ANALÍTICA DA SIMAZINA E (B) GRÁFICO DE RESÍDUOS DO MÉTODO SPE-LC/UV PARA ANÁLISE SIMULTÂNEA DAS TRIAZINAS

-	ANOVA
무	ANOVA

			DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Prob>F
Ц		Model	1	3911,68275	3911,68275	272,57013	7,88218E-5
	Mean	Error	4	57,40442	14,35111		
		Total	5	3969,08717			





Fonte: Do autor.

## FIGURA 42 (A) CURVA ANALÍTICA DA SIMETRINA E (B) GRÁFICO DE RESÍDUOS DO MÉTODO SPE-LC/UV PARA ANÁLISE SIMULTÂNEA DAS TRIAZINAS

	ANOVA
_	/ 010 // 1

			DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Prob>F
Ц		Model	1	1839,65704	1839,65704	630,85195	1,49183E-5
	Mean	Error	4	11,66459	2,91615		
		Total	5	1851,32163			





Fonte: Do autor.

FIGURA 43 (A) CURVA ANALÍTICA DA TERBUTRINA E (B) GRÁFICO DE RESÍDUOS DO MÉTODO SPE-LC/UV PARA ANÁLISE SIMULTÂNEA DAS TRIAZINAS

F	ANOV	4					
			DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Prob>F
ΙL		Model	1	12349,42706	12349,42706	735,75081	1,09841E-5
	Mean	Error	4	67,13918	16,7848		
		Total	5	12416,56624			





#### 5.5.4.3 Limites de Detecção e de Quantificação do método SPE/LC-UV

O limite de quantificação (LOQ) foi determinado como a menor concentração da curva analítica, onde se pode quantificar os analitos com precisão e exatidão, considerando o coeficiente de variação (C.V.) inferior a 15%. O LOQ foi também determinado pelo sinal cromatográfico dez vezes superior a qualquer interferência da amostra branco, no tempo de retenção das triazinas.

O cromatograma obtido da análise simultânea das triazinas em amostras de água na concentração referente ao limite de quantificação pode ser observado na Figura 44.

#### FIGURA 44 CROMATOGRAMA REFERENTE AO LIMITE DE QUANTIFICAÇÃO DO MÉTODO SPE-LC/UV PARA ANÁLISE SIMULTÂNEA DAS TRIAZINAS



Fonte: Do autor.

Para a determinação dos limites de quantificação e detecção, em técnicas analíticas em geral, o método mais utilizado é o da relação sinal-ruído, porém em técnicas analíticas de separação, como as cromatográficas, a medição do ruído não é trivial e às vezes subjetiva (já que a curva analítica é construída com a área e não somente o sinal do detector). Além disso, tanto o LOD quanto o LOQ podem ser afetados pelas condições cromatográficas. Picos maiores aumentam a relação sinal-ruído, resultando em LOD e LOQ mais baixos. Além disso, a determinação cromatográfica desses parâmetros deve considerar tanto o tipo quanto o tempo de uso da coluna. O melhor caminho para resolver este problema do cálculo do LOD e LOQ é utilizar o método baseado nos parâmetros da curva analítica contendo a concentração do LOQ, que é estatisticamente mais confiável (RIBANI et al., 2004).

Os Limites de detecção e quantificação, com base nos parâmetros da curva analítica estão apresentados na Tabela 14.

Triazina	LOD (ng.mL <sup>-1</sup> )	LOQ (ng.mL <sup>-1</sup> )	LOQ <sub>Experimental</sub> (ng.mL <sup>-1</sup> )
Ametrina	0,22	0,72	0,5
Atrazina	0,07	0,23	0,5
Prometrina	0,12	0,42	0,5
Propazina	0,18	0,62	0,5
Simazina	0,10	0,34	0,5
Simetrina	0,13	0,44	0,5
Terbutrina	0,18	0,59	0,5

TABELA 14 LIMITES DE DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DO MÉTODO SPE/LC-UV PARA ANÁLISE SIMULTÂNEA DAS TRIAZINAS

Fonte: Do autor.

#### 5.5.4.4 Recuperação do método SPE/LC-UV

Na Tabela 15 encontram-se os valores de recuperação absoluta e C.V. inter ensaio das triazinas para o método SPE/LC-UV em amostras de água branco de referência enriquecidas em três níveis de concentração, baixo (0,5 ng.mL<sup>-1</sup>- LOQ), médio (10 ng.mL<sup>-1</sup>) e alto (50 ng.mL<sup>-1</sup>); para cada concentração os testes foram realizados em replicata (n=5).

Triazina	Concentração Amostra Fortificada (ng.mL <sup>-1</sup> )	Massa Adicionada (ng)	Massa Obtida (ng)	Recuperação Absoluta (%)	C.V. (%)
	0,5	150,00	157,35	104,9	12,2
Ametrina	10,0	3000,00	2295,00	76,5	1,7
	50,0	15000,00	12495,00	83,3	1,8
	0,5	150,00	153,75	102,5	14,0
Atrazina	10,0	3000,00	2328,00	77,6	0,6
	50,0	15000,00	13410,00	89,4	3,5
	0,5	150,00	157,50	105,0	7,5
Prometrina	10,0	3000,00	2358,00	78,6	2,2
	50,0	15000,00	13350,00	89,0	1,0
Continua					

### TABELA 15 RECUPERAÇÃO E COEFICIENTE DE VARIAÇÃO INTER-ENSAIO DO MÉTODO SPE/LC-UV PARA ANÁLISE SIMULTÂNEA DAS TRIAZINAS NAS CONCENTRAÇÕES DE 0,5 ng.mL<sup>-1</sup>, 10 ng.mL<sup>-1</sup> E 50 ng.mL<sup>-1</sup>.

Triazina	Concentração Amostra Fortificada (ng.mL <sup>-1</sup> )	Massa Adicionada (ng)	Massa Obtida (ng)	Recuperação Absoluta (%)	C.V. (%)
	0,5	150,00	124,95	83,3	11,6
Propazina	10,0	3000,00	2244,00	74,8	2,4
	50,0	15000,00	11325,00	75,5	1,1
	0,5	150,00	136,50	91,0	9,1
Simazina	10,0	3000,00	2250,00	75,0	1,5
	50,0	15000,00	11265,00	75,1	8,5
	0,5	150,00	126,30	84,2	8,5
Simetrina	10,0	3000,00	2430,00	81,0	2,7
	50,0	15000,00	13200,00	88,0	4,7
	0,5	150,00	151,50	101,0	11,1
Terbutrina	10,0	3000,00	2508,00	83,6	1,2
	50,0	15000,00	14250,00	95,0	1,2

CONTINUAÇÃO TABELA 15 RECUPERAÇÃO E COEFICIENTE DE VARIAÇÃO INTER-ENSAIO DO MÉTODO SPE/LC-UV PARA ANÁLISE SIMULTÂNEA DAS TRIAZINAS NAS CONCENTRAÇÕES DE 0,5 ng.mL<sup>-1</sup>, 10ng.mL<sup>-1</sup> E 50ng.mL<sup>-1</sup>.

Fonte: Do autor.

De acordo com os resultados obtidos verificamos que a recuperação absoluta e o coeficiente de variação para o método se mostraram satisfatórios para o monitoramento ambiental segundo o manual de garantia da qualidade analítica do MAPA. No entanto podemos ressaltar que a diminuição das taxas de recuperação com aumento da concentração pode ser atribuída às características adsortivas da fase extratora. Em baixas concentrações diminuem a competição pelos sítios da superfície, aumentando, portanto, a capacidade da fase extratora.

# 5.5.5 APLICABILIDADE DO MÉTODO SPE/LC-UV

As figuras de mérito avaliadas e apresentadas na Tabela 16 estão de acordo com o manual de garantia da qualidade do MAPA (BRASIL - MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO, 2011) e apresentou limite de quantificação que atende as exigências da ANVISA e CONAMA para monitoramento ambiental.

	Parâmetro Exigido Pelo MAPA	Parâmetro Validado
Seletividade	O sinal do interferente deve ser < 30% do sinal na concentração do menor nível calibrado.	Não houve sinal analítico dos interferentes no tempo de retenção das triazinas em concentrações correspondentes ao LOQ.
Linearidade	Os resíduos de regressão individuais não devem ser maiores que ± 20% em relação à resposta obtida na curva de calibração.	Os intervalos avaliados apresentaram-se lineares com coeficientes de correção maiores que 0,982 e os resíduos heterosedásticos.
Recuperação e Precisão Inter-Ensaio	O procedimento analítico deve ser capaz de recuperar, em cada nível de fortificação de 70% a 120% em média para todos os analitos, com uma precisão de CV ≤ 20%.	As taxas de Recuperação absoluta obtidas variaram de 74,8-105,0% com C.V ≤ 14,0

## TABELA 16 FIGURAS DE MÉRITO AVALIADAS NO MÉTODO SPE/LC-UV PARA ANÁLISE SIMULTÂNEA DAS TRIAZINAS

Continua

# CONTINUAÇÃO TABELA 16 FIGURAS DE MÉRITO AVALIADAS NO MÉTODO SPE/LC-UV

	Parâmetro Exigido Pelo MAPA	Parâmetro Validado
Limite de Quantificação	Nível mais baixo no qual foi demonstrado que os critérios de veracidade e precisão foram atendidos, desde que a relação sinal/ruído seja superior a seis (S/R ≥ 6).	0,5 ng.mL <sup>-1</sup> para análise simultânea das 7 Triazinas
Limite de Detecção	Nível onde a concentração do analito produz um sinal de três vezes a razão sinal/ruído do equipamento.	0,10-0,22 ng.mL <sup>-1</sup> para análise simultânea das 7 Triazinas

Fonte: Do autor.

Atualmente, existem vários métodos de extração e estão disponíveis comercialmente várias fases de SPE, e há ainda um grande número de novas fases reportadas em artigos científicos. Não foram encontradas referências citando o copolímero Sty-DVB recoberto com polipirrol (PPY), sendo empregado como fase extratora.

Para fins de comparação, com a fase desenvolvida nesse trabalho, foram buscadas referências em métodos de extração para preparo de amostras contendo herbicidas triazínicos, com o intuito de ratificar a eficiência da fase E02/PPY desenvolvida, é apresentada a seguir, uma breve comparação frente a outras fases extratoras e outros métodos de análise.

O herbicida prometrina foi analisado empregando o método de extração denominado Extração por Ponto de Nuvem, e analisado por LC-UV, tendo sido obtidos valores de recuperação entre 96-99% para amostras de água e entre 87-93% para amostras de solo. Em ambos os casos, as amostras foram fortificadas nas concentrações entre 0,4-10 mg.kg<sup>-1</sup> (ZHOU et al., 2009).

A técnica de extração *in-tube* foi empregada para a extração de herbicidas triazínicos e posterior análise através de cromatografia líquida capilar e detecção por arranjo de fotodiodos, c-LC-UV-DAD. Neste trabalho foram analisados os herbicidas

atrazina, propazina e terbutilazina, na faixa de 0,25-50  $\mu$ g.L<sup>-1</sup>, sendo obtidos valores de LOD de 0,02  $\mu$ g.L<sup>-1</sup> para a terbutilazina, e 0,04  $\mu$ g.L<sup>-1</sup> para a atrazina e propazina, com taxas de recuperação absoluta máximas de 106%, 114%, e 120% respectivamente (MOLINER-MARTÍNEZ et al., 2015).

Os herbicidas propazina e terbutrina em matrizes de solo e água tratada foram determinados aplicando a microextração com sorvente empacotado (MEPS) seguida de análise por LC-UV. Na faixa de linearidade estudada (1-500 ng.mL<sup>-1</sup>), os limites de quantificação obtidos variaram entre 0,175-1,98 ng.mL<sup>-1</sup>, os limites de detecção para a propazina foram de 0,042 ng.mL<sup>-1</sup> (água) e 0,039 ng.mL<sup>-1</sup> (solo) e para a terbutrina, 0,043 ng.mL<sup>-1</sup> (água) e 0,040 ng.mL<sup>-1</sup> (solo), com percentuais de recuperação de 87,8% (água) e 86,7% (solo) e 84,8% (água) e 82,1% (solo), respectivamente (KAUR et al., 2014).

A microextração em fase sólida foi empregada, acoplada on-line à cromatografia líquida capilar, SPME/c-LC, e comparada à extração *in-tube*/c-LC (nas modalidades de coluna empacotada e coluna aberta), para a análise de herbicidas em amostras de água. Os herbicidas analisados foram simazina, atrazina, propazina, ametrina, prometrina e terbutrina. Usando SPME convencional os percentuais de recuperação obtidos variaram entre 0,27 -1,96% e os limites de detecção de 25-125 μg. L<sup>-1</sup>; usando *in-tube*/coluna aberta as recuperações variaram de 0,84-6,2% e os limites de detecção de 0,1-1,0 μg.L<sup>-1</sup>; usando *in-tube*/coluna empacotada as recuperações variaram de 79-131% e os limites de detecção 0,025-0,5 μg.L<sup>-1</sup> (CHÁFER-PERICÁS; HERRÁEZ-HERNÁNDEZ; CAMPÍNS-FALCÓ, 2006).

Nanofibras ocas de polibutileno tereftalato recobertas com polipirrol (PBT/PPY) foram sintetizadas e aplicadas para a extração de triazinas via SPME/CG-MS, a linearidade do método foi de 0,3-500 ng.mL<sup>-1</sup> (ametrina e terbutrina) e de 0,5-500 ng.mL<sup>-1</sup> (atrazina) onde foram obtidos limites de detecção entre 0,05 ng.mL<sup>-1</sup> (ametrina e terbutrina) e 0,09 ng.mL<sup>-1</sup> (atrazina) e taxas de recuperação entre 94% (atrazina) e 95% (ametrina e terbutrina) (BAGHERI; REZVANI; BANIHASHEMI, 2016).

Uma fase baseada em nanofios de polipirrol, sintetizados em solução contendo brometo de cetiltrimetilamônio foi aplicada em MEPS/CG-MS na análise de atrazina, ametrina e terbutrina. Os valores de recuperação foram de 55% (atrazina), 98% (ametrina) e 96% (terbutrina), a linearidade do método foi de 0,5-500 ng.mL<sup>-1</sup> e os limites de detecção foram de 0,04 ng.mL<sup>-1</sup> (atrazina) 0,05 ng.mL<sup>-1</sup> (ametrina) e 0,02 ng.mL<sup>-1</sup> (terbutrina) (BAGHERI; AYAZI, 2011).

Considerando os valores apresentados na bibliografia e comparando-os com aqueles obtidos para a fase E02/PPY sintetizada, é possível afirmar que os limites de detecção e as taxas de recuperação alcançados estão em acordo com a maior parte dos trabalhos citados, e inclusive apresenta valores de LOD e LOQ inferiores aos previstos na legislação nacional.

#### 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Polímeros monolíticos à base Sty/DVB foram sintetizados via polimerização em massa e emulsão de alta fase interna. Os monolitos apresentaram preferencialmente estrutura macroporosa indicada pelas análises de adsorção/dessorção de nitrogênio e microscopia eletrônica de varredura.

O monolito via polimerização em massa foi preparado em ponteira de pipeta descartável e o monolito via polimerização em emulsão de alta fase interna foi preparado em cartucho.

A superfície do monolito preparado via polimerização em emulsão de alta fase interna (E02) foi modificada com polipirrol, onde o recobrimento da superfície do monolito foi efetiva. A morfologia do monolito foi mantida após a modificação química.

O monolito preparado via polimerização em massa, foi aplicado como fase extratora para DPX para análise de triazinas em água. O monolito avaliado (M03) apresentou um fator de concentração de duas vezes e a recuperação absoluta variou de 28 a 64% para as triazinas.

O monolito preparado via polimerização em emulsão de alta fase interna e o monolito modificado com polipirrol foram avaliados como fase extratora para SPE, e o monolito modificado (E02/PPY) apresentou maior seletividade e por isso maior porcentagem de recuperação devido a presença do polipirrol.

O monolito E02/PPY, apresentou condições de reuso, sem perda da eficiência de extração após 10 extrações.

As condições de extração do cartucho contendo o monolito E02/PPY foram otimizadas, e a condição otimizada foi utilizada para a validação do método SPE/LC-UV.

O método SPE/LC-UV validado apresentou linearidade na faixa de concentração de 0,5-50 ng.mL<sup>-1</sup> e recuperação que variou de 75 a 105 % com C.V. menores que 15%.

O limite de quantificação do método SPE/LC-UV foi de 0,5 ng.mL<sup>-1</sup> para todos os analitos, atendendo a legislação nacional para a análise de alimentos e águas superficiais.

Desta forma, os resultados obtidos apontam para o uso de fases monolíticas como promissora ferramenta em técnicas de preparo de amostras desde escala convencional (SPE) à miniaturizadas como DPX. Os métodos desenvolvidos neste estudo apresentaram sensibilidade e seletividade adequados para análises de triazinas em amostras de água por cromatografia líquida com detecção UV.

# 7 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKDOGAN, A.; DIVRIKLI, U.; ELCI, L. Determination of Triazine Herbicides and Metabolites by Solid Phase Extraction with HPLC Analysis. **Analytical Letters**, v. 46, n. 15, p. 2464–2477, 2013.

ALBANIS, T. A. et al. Monitoring of pesticide residues and their metabolites in surface and underground waters of Imathia (N. Greece) by means of solid-phase extraction disks and gas chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 823, n. 1–2, p. 59–71, 1998.

AYDINLI, B.; TOPPARE, L.; TINÇER, T. Conducting composite of polypyrrole with ultrahigh molecular weight polyethylene foam. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 72, n. 14, p. 1843–1850, 1999.

BAGHERI, H.; AYAZI, Z. Polypyrrole nanowires network for convenient and highly efficient microextraction in packed syringe. **Analytical Methods**, v. 3, n. 11, p. 2630, 2011.

BAGHERI, H.; REZVANI, O.; BANIHASHEMI, S. Core-shell electrospun polybutylene terephthalate/polypyrrole hollow nanofibers for micro-solid phase extraction. **Journal of Chromatography A**, v. 1434, p. 19–28, 2016.

BRASIL. Lei no. 7.802, de 11 de julho de 1989. p. 1-7, 1989.

BRASIL - MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Manual de garantia da qualidade analítica. 1a. ed. Brasília - DF: Secretaria de Defesa Agropecuária - MAPA/ACS, 2011.

BREWER, W. E. Disposable Pipette Extraction. v. 2, n. 12, p. 8–15, 2003.

BUCHMEISER, M. R. Stationary phases for chromatography prepared by ring opening metathesis polymerization. **Journal of Separation Science**, v. 31, n. 11, p. 1907–1922, 2008.

CAMERON, N. R. et al. Study of the formation of the open-cellular morphology of poly(styrene/divinylbenzene) polyHIPE materials by cryo-SEM. **Colloid & Polymer Science**, v. 274, n. 6, p. 592–595, 1996.

CAMERON, N. R. Chapter 12 Polymerized High Internal Phase Emulsion Monoliths. **Journal of Chromatography Library**, v. 67, n. C, p. 255–276, 2003.

CAVALCANTE, R. M. et al. Utilização da extração em fase sólida (SPE) na determinação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em matrizes aquosas ambientais. **Quimica Nova**, v. 30, n. 3, p. 560–564, 2007.

CETINER, S. et al. Polymerization of pyrrole derivatives on polyacrylonitrile matrix, FTIR-ATR and dielectric spectroscopic characterization of composite thin films. **Synthetic Metals**, v. 160, n. 11–12, p. 1189–1196, 2010.

CHÁFER-PERICÁS, C.; HERRÁEZ-HERNÁNDEZ, R.; CAMPÍNS-FALCÓ, P. Onfibre solid-phase microextraction coupled to conventional liquid chromatography versus in-tube solid-phase microextraction coupled to capillary liquid chromatography for the screening analysis of triazines in water samples. **Journal of Chromatography A**, v. 1125, n. 2, p. 159–171, 2006.

CHAVES, A. R. et al. Biocompatible in-tube solid phase microextraction coupled with liquid chromatography-fluorescence detection for determination of interferon  $\alpha$  in plasma samples. **Journal of chromatography. A**, v. 1218, n. 21, p. 3376–81, 27 maio 2011.

CHEN, D. et al. Determination of Triazine Herbicides in Drinking Water by Dispersive Micro Solid Phase Extraction with Ultrahigh-Performance Liquid Chromatography-High-Resolution Mass Spectrometric Detection. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 63, n. 44, p. 9855–9862, 2015.

CHIMUKA, L. et al. Selective extraction of triazine herbicides based on a combination of membrane assisted solvent extraction and molecularly imprinted solid phase extraction. **Journal of Chromatography A**, v. 1218, n. 5, p. 647–653, 2011.

COUTINHO, F. M. B.; RABELO, D. Scanning electron microscopy study of styrenedivinylbenzene copolymers. **European Polymer Journal**, v. 28, n. 12, p. 1553–1557, dez. 1992.

DUAN, C. et al. Recent developments in solid-phase microextraction for on-site sampling and sample preparation. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 30, n. 10, p. 1568–1574, 2011.

FARIA, A. M. et al. Fases estacionárias monolíticas para separações cromatográficas. **Quimica Nova**, v. 29, n. 2, p. 300–309, 2006.

GENG, H. R. et al. A newly developed molecularly imprinted polymer on the surface of TiO2 for selective extraction of triazine herbicides residues in maize, water, and soil. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 407, n. 29, p. 8803–8812, 2015.

GUIOCHON, G.; BEAVER, L. A. Separation science is the key to successful biopharmaceuticals. **Journal of Chromatography A**, v. 1218, n. 49, p. 8836–8858, 2011.

HURTADO-SÁNCHEZ, M. C. et al. Rapid and sensitive on-line solid phase extraction-ultra high performance liquid chromatography-electrospray-tandem mass spectrometry analysis of pesticides in surface waters. **Journal of Chromatography A**, v. 1305, p. 193–202, 2013.

JARDIM, I. C. S. F. Extração em Fase Sólida : Fundamentos Teóricos e Novas Estratégias para Preparação de Fases Sólidas. **Scientia Chromatographica**, v. 2, n. 1, p. 13–25, 2010.

KAUR, M. et al. Microextraction by Packed Sorbent – High-Pressure Liquid Chromatographic – Ultra Violet Analysis of Endocrine Disruptor Pesticides in Various Matrices. n. ii, p. 977–984, 2014. LANÇAS, F. M. Extração em Fase Sólida (SPE). São Carlos, SP: Editora RIMA, 2004.

LEBARON, H. M.; MCFARLAND, J. E. Front Matter. **Fundamentals of Gas Shale Reservoirs**, p. i–xviii, 2015.

LI, N. et al. Dispersive micro-solid-phase extraction of herbicides in vegetable oil with metal-organic framework MIL-101. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 63, n. 8, p. 2154–2161, 2015.

LISSANT, K. J.; MAYHAN, K. G. A study of medium and high internal phase ratio water/polymer emulsions. **Journal of Colloid And Interface Science**, v. 42, n. 1, p. 201–208, 1973.

MARCHI, G.; MARCHI, E. C. S.; GUIMARÃES, T. G. Herbicidas: mecanismos de ação e uso. **Documentos**, p. 36, 2008.

MENNER, A.; BISMARCK, A. New evidence for the mechanism of the pore formation in polymerising high internal phase emulsions or why polyHIPEs have an interconnected pore network structure. **Macromolecular Symposia**, v. 242, p. 19–24, 2006.

MOHAMMADI, A.; YAMINI, Y.; ALIZADEH, N. Dodecylsulfate-doped polypyrrole film prepared by electrochemical fiber coating technique for headspace solid-phase microextraction of polycyclic aromatic hydrocarbons. **Journal of Chromatography A**, v. 1063, n. 1–2, p. 1–8, 2005.

MOLINER-MARTÍNEZ, Y. et al. Analysis of polar triazines and degradation products in waters by in-tube solid-phase microextraction and capillary chromatography: An environmentally friendly method. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 407, n. 5, p. 1485–1497, 2015.

NICOLOPOULOU-STAMATI, P. et al. Chemical Pesticides and Human Health: The Urgent Need for a New Concept in Agriculture. **Frontiers in Public Health**, v. 4, n. July, p. 1–8, 2016.

OKAY, O. Macroporous copolymer networks. [s.l: s.n.]. v. 25

ÖTLES, S.; KARTAL, C. Solid-Phase Extraction (SPE): Principles and applications in food samples. **Acta Scientiarum Polonorum, Technologia Alimentaria**, v. 15, n. 1, p. 5–15, 2016.

PEI, Q.; QIAN, R. Protonation and deprotonation of polypyrrole chain in aqueous solutions. **Synthetic Metals**, v. 45, n. 1, p. 35–48, 1991.

PURDEŠOVÁ, A. et al. Evaluation of calibration approaches for quantification of pesticide residues in surface water by SPE with small-size cartridges followed by fast GC-MS. **Analytical Methods**, v. 5, n. 13, p. 3403, 2013.

RIBANI, M. et al. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Quimica Nova**, v. 27, n. 5, p. 771–780, 2004.

RODRÍGUEZ-GONZÁLEZ, N. et al. On-line solid-phase extraction method for determination of triazine herbicides and degradation products in seawater by ultrapressure liquid chromatography–tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1470, p. 33–41, 2016.

SHRIVASTAVA, A.; GUPTA, V. Methods for the determination of limit of detection and limit of quantitation of the analytical methods. **Chronicles of Young Scientists**, v. 2, n. 1, p. 21, 2011.

SILVERSTEIN, M. S. PolyHIPEs: Recent advances in emulsion-templated porous polymers. **Progress in Polymer Science**, v. 39, n. 1, p. 199–234, 2014.

SIMPSON, N. J. K.; MARTHA, W. J. M. Introduction to solid-phase extraction. **Solid-Phase Extraction: Principles, Techniques, and Applications**, p. 1–17, 2000.

SVEC, F.; FRECHET, J. M. J. Kinetic Control of Pore Formation in Macroporous Polymers. Formation of "Molded" Porous Materials with High Flow Characteristics for Separations or Catalysis. **Chemistry of Materials**, v. 7, n. 4, p. 707–715, 1995.

SVEC, F.; TENNIKOVA, T. B.; DEYL, Z. Monolithic Materials: Preparation, **Properties, and Applications**. Amsterdam: Elsevier, 2003.

TEBBOTH, M.; KOGELBAUER, A.; BISMARCK, A. Highly permeable macroporous polymers via controlled agitation of emulsion templates. **Chemical Engineering Science**, v. 137, p. 786–795, 2015.

TEIXEIRA, V. G.; COUTINHO, F. M. B.; GOMES, A. S. The most important methods for the characterization of porosity of styrene-divinylbenzene based resins. **Química Nova**, v. 24, n. 6, p. 808, 2001.

TOMLIN, C. D. S. The Pesticide Manual. 13. ed. Hampshire: [s.n.].

WAGHULEY, S. A. et al. Application of chemically synthesized conducting polymerpolypyrrole as a carbon dioxide gas sensor. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 128, n. 2, p. 366–373, 2008.

WANG, M. et al. Pipette-tip solid-phase extraction by use of a sol-gel hybrid adsorbent: a new pretreatment strategy for rapid screening of cucumbers for cyanazine and atrazine. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 407, n. 4, p. 1231–1239, 2015.

WEBB, P. . A.; ORR, C. **Analytical Methods in Fire Particle Technology**. [s.l.] Micrometrics Instrument Corporation Publishers, 1997.

WELLS, M. J. M. Applications of Spe To. Matrix, 2000.

WELLS, M. J. M.; RIEMER, D. D.; WELLS-KNECHT, M. C. Development and optimization of a solid-phase extraction scheme for determination of the pesticides metribuzin, atrazine, metolachlor and esfenvalerate in agricultural runoff water. **Journal of Chromatography A**, v. 659, n. 2, p. 337–348, 1994.

WU, J.; PAWLISZYN, J. Preparation and applications of polypyrrole films in solidphase microextraction. **Journal of Chromatography A**, v. 909, n. 1, p. 37–52, 2001.

ZHOU, J. et al. Determination of Prometryne in water and soil by HPLC-UV using cloud-point extraction. **Talanta**, v. 79, n. 2, p. 189–193, 2009.

ZIPPI, E. M.; KABALKA, G. W. Synthesis, characterization and pyrolysis of poly(styrene/divinylbenzene) derivativesCarbon, 1996.