Título

Desenvolvimento e Aplicação do Método Analítico para Determinação
de LAB em Detergentes por SPME-GC/MS

Title

Development and Application Method for Determination of LAB in
Detergents by SPME-GC/MS

Abstract

Linear Alkylbenzene Sulfonated (LAS) is the main anionic surfactant, wide used in detergents. The Linear Alkylbenzene (LAB), a by-product, makes association with the surfactant, due the incomplete sulfonation of the LAS. Recently there has been widespread interest in their use as markers tracers of domestic waste in the aquatic environment.

In this study, a new method for determination of LAB in detergents involving gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS) in combination with Solid Phase Microextraction (SPME) is proposed. A factorial design was utilized to obtain the optimum values for the main operation parameters in the analysis of

LAB in detergents using direct SPME in the pre-concentration step. SPME-GC/MS in combination with principal component analysis (PCA) was employed to evaluate the parameters that affect on SPME.

The optimized method was applied to commercial detergents (0.97 and 3.67 mg.g⁻¹ of total LAB) and LAS (24.47 mg.g⁻¹ of total LAB) samples. Similar profiles of LAB congeners were found for the detergents and LAS samples indicating that identical surfactants. In some samples, LAB were not found (limit of detection < 0.2 µg.mL⁻¹).

Palavras chaves: planejamento fatorial, análise univariada, quimiometria.

Keywords: factorial design, univariable analysis, chemometrics.

Universidade de São Paulo

Instituto de Química

Tese de Doutorado

**Desenvolvimento e Aplicação do Método Analítico para
Determinação de LAB em Detergentes por SPME-GC/MS**

José Carlos Pires Penteado

Prof^a Dr^a Lílian Rothchild Franco de Carvalho

20 de setembro de 2005

“Minha opinião é a de que é melhor ser ousado que prudente, porque....”

Niccolò Maquiavelli (1469-1527)

Agradecimentos

Aos colegas do LEMA –IQ/USP– Laboratório de Estudos do Meio Ambiente: Alexandre, Andréa, Auzébio, Célia, Davi, Denise, Dulce, Heliara, Marcelo, Luciana, Regiane e Silvana pela companhia durante todos os anos que passamos juntos.

Aos funcionários do IQ, da USP, pela ajuda prestada no decorrer do trabalho.

Ao Prof. Dr. Jorge Moreira Vaz, não só pela disponibilidade e experiência transmitida, mas também pela ajuda nas infindáveis situações.

Ao Prof. Dr. Roy E. Bruns por sua amizade e por seus ensinamentos em quimiometria.

À Prof^a Dr^a Lílian R. F. de Carvalho pela amizade e oportunidade de realizar este trabalho.

Resumo

O alquil benzeno sulfonato linear (LAS) é o principal tensoativo aniônico, largamente utilizado em detergentes. O alquil benzeno linear (LAB), um subproduto, faz uma associação ao tensoativo devido a sulfonação incompleto do LAS. Recentemente tem tido grande interesse de usá-lo como marcador de efluente doméstico no ambiente aquático.

Neste estudo, um novo método para determinação de LAB em detergentes envolvendo cromatografia a gás acoplado a espectrometria de massa em combinação com microextração em fase sólida (SPME) é proposto. O planejamento fatorial foi utilizado para obter valores ótimos para os principais parâmetros de análises de LAB em detergentes usando SPME direto como etapa de pré-concentração. SPME-GC/MS combinada com análise de componentes principais (PCA) e empregada para avaliar os parâmetros que afetam a SPME.

O método otimizado foi aplicado nas amostras de detergentes comerciais (0,97 a 3,67 mg.g⁻¹ LAB totais) e LAS (24,7 mg.g⁻¹ LAB totais). Um perfil similar foi encontrado entre as amostras de detergentes e o LAS indicando que os tensoativos são idênticos. E algumas amostras, os LAB não foram encontrados (limite de detecção < 0,2 µg.mL⁻¹).

Abstract

Linear Alkylbenzene Sulfonated (LAS) is the main anionic surfactant, wide used in detergents. The Linear Alkylbenzene (LAB), a by-product, makes association with the surfactant, due the incomplete sulfonation of the LAS. Recently there has been widespread interest in their use as markers tracers of domestic waste in the aquatic environment.

In this study, a new method for determination of LAB in detergents involving gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS) in combination with Solid Phase Microextraction (SPME) is proposed. A factorial design was utilized to obtain the optimum values for the main operation parameters in the analysis of LAB in detergents using direct SPME in the pre-concentration step. SPME-GC/MS in combination whit principal component analysis (PCA) was employed to evaluate the parameters that affect on SPME.

The optimized method was applied to commercial detergents (0.97 and 3.67 mg.g⁻¹ of total LAB) and LAS (24.47 mg.g⁻¹ of total LAB) samples. Similar profiles of LAB congeners were found for the detergents and LAS samples indicating that identical surfactants. In some samples, LAB were not found (limit of detection < 0.2 µg.mL⁻¹).

Índice

1	INTRODUÇÃO	18
1.1	Química de tensoativos.....	18
1.2	Alquilbenzeno sulfonato linear (LAS)	20
1.3	Impacto ambiental	23
1.3.1	Efeitos ambientais e toxicológicos	23
1.3.2	Mecanismo de remoção de LAS no meio ambiente	25
1.4	Monitoramento	30
1.4.1	LAB como marcador de efluente doméstico	30
1.5	Detergentes no Brasil.....	31
1.5.1	Métodos analíticos para determinação de LAS e LAB	35
1.6	Microextração em fase Sólida (SPME)	44
2	OBJETIVOS	48
2.1	Objetivo Geral	48
2.2	Objetivos Seletivos.....	48
3	PARTE EXPERIMENTAL	49
3.1	Materiais	49
3.1.1	Padrões	49
3.1.2	Solventes e reagentes.....	49
3.2	Instrumentação analítica e condições operacionais	51
3.2.1	GC/MS.....	51
3.2.2	SPME.....	53
3.3	Desenvolvimento do método analítico	56

3.3.1	Mistura industrial de LAB.....	56
3.3.2	Desenvolvimento de método por SPME-GC/MS.....	57
3.3.3	Otimização Univariada.....	57
3.3.4	Otimização Multivariada.....	59
3.3.5	Univariada <i>versus</i> multivariada.....	62
3.3.6	Tempo de <i>Splitless</i>	63
3.3.7	Parâmetros de validação do método analítico	63
3.4	Análise das amostras	65
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	66
4.1	Análise da mistura industrial de LAB por GC/MS.....	66
4.1.1	Identificação	66
4.1.2	Quantificação.....	69
4.2	Desenvolvimento de método por SPME-GC/MS.....	72
4.2.1	Avaliação pelo método univariado.....	72
4.2.2	Otimização pelo método multivariado	82
4.2.3	Método univariado <i>versus</i> método multivariado.....	94
4.2.4	Influência do tempo de <i>splitless</i>	96
4.3	Parâmetros de Validação	98
4.3.1	Análise de interferentes (“brancos”).....	98
4.3.2	Linearidade, LD, LQ e CV	102
4.3.3	Avaliação da eficiência da extração	103
4.4	Aplicação do método proposto.....	104
4.4.1	Classificação de detergentes comerciais.....	106
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS	109

5.1	Conclusões do trabalho.....	109
5.2	Sugestões para trabalhos futuros	110
6	RERERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	112

Siglas

ABS:	Alquilbenzeno sulfonato não linear.
MBA:	Corante catiônico azul de metileno.
CETESB:	Companhia de Tecnologia e Saneamento Ambiental
GC-MS:	Cromatografia a gás acoplada à espectrometria de massas.
CV:	Coeficiente de variação
LC-MS:	Cromatografia a líquido acoplada a espectrometria de massas.
CONAMA:	Conselho Nacional do Meio Ambiente
CE:	Eletroforese capilar.
CE-MS:	Eletroforese capilar acoplada à espectrometria de massas.
HPLC:	Cromatografia à líquido de alta desempenho
LD:	Limite de detecção
LLE:	Extração líquido/líquido.
LQ:	Limite de quantificação
SPE:	Extração em fase sólida.
IE:	Isômeros externos; o grupo fenila está mais próximo ao átomo de carbono terminal da cadeia alquílica.
II:	Isômeros internos ; o grupo fenila está perto do centro da cadeia alquílica.
IPMCA:	Parâmetros mínimos para a preservação da vida aquática
LAB:	Alquilbenzeno linear
LAS:	Alquilbenzeno sulfonato linear

MBAS:	Substância ativa para azul de metileno.
PAH:	Compostos policíclicos aromáticos.
PCB:	Bifenilas policloradas
PI:	Padrão interno
S:	Desvio padrão
SBSE:	Extração por adsorção em barra magnética
SPME:	Microextração em fase sólida.
SPC:	Ácido sulfofenil carboxílico.
VOC:	Compostos orgânicos voláteis

Índice de Figuras

Figura 1. Estrutura molecular do Alquilbenzeno sulfonato linear (LAS).	20
Figura 2. Reação de biodegradação aeróbica do LAS.....	28
Figura 3. Mecanismo de oxidação (A) ω e (B) β da cadeia alquílica durante a degradação do tensoativo ⁸	29
Figura 4. Estrutura química do ácido sulfofenil carboxílico (SPC).	30
Figura 5 - Gráfico das rampas de aquecimento e pressão utilizadas na análise por GC/MS.....	52
Figura 6. Sistema para extração por SPME.....	54
Figura 7 - Dispositivo em alumínio para manter uniforme a temperatura na extração SPME (medida da em mm).	56
Figura 8- Cromatograma de íon total (GC/MS-SCAN) dos 25 LAB em solução descrita no texto. Mistura industrial: (1)-5 ϕ -C ₁₀ ; (2)- 4 ϕ -C ₁₀ ; (3)-3 ϕ -C ₁₀ ; (4)- 2 ϕ -C ₁₀ ; (5)-6 ϕ -C ₁₁ ; (6)- 5 ϕ -C ₁₁ ;(7)-4 ϕ -C ₁₁ ; (8)- 3 ϕ -C ₁₁ ; (10)- 2 ϕ -C ₁₁ ; (11)-6 ϕ -C ₁₂ ; (12)- 5 ϕ -C ₁₂ ; (13)-4 ϕ - C ₁₂ ; (14)- 3 ϕ -C ₁₂ ; (16)- 2 ϕ -C ₁₂ ; (17,18)-7/6 ϕ -C ₁₃ ; (19)-5 ϕ -C ₁₃ ; (20)- 4 ϕ -C ₁₃ ; (21)-3 ϕ -C ₁₃ ; (23)-2 ϕ - C ₁₃ AB Padrão: ; (9)-1 ϕ -C ₁₀ ; (15)-1 ϕ -C ₁₁ ; (22)-1 ϕ -C ₁₂ (24)-1 ϕ -C ₁₃ ; (25)-1 ϕ -C ₁₄ AB.	67
Figura 9 – Espectros de massa dos isômeros do homólogo n ϕ -C ₁₀ AB.....	68
Figura 10 - Cromatograma de íon total (GC/MS-SCAN) dos 20 LAB na mistura industrial: (1)-5 ϕ -C ₁₀ ; (2)- 4 ϕ -C ₁₀ ; (3)-3 ϕ -C ₁₀ ; (4)- 2 ϕ -C ₁₀ ; (5)-6 ϕ -C ₁₁ ; (6)- 5 ϕ -C ₁₁ ;(7)-4 ϕ -C ₁₁ ; (8)- 3 ϕ -C ₁₁ ; (9)- 2 ϕ -C ₁₁ ; (10)-6 ϕ -C ₁₂ ; (11)- 5 ϕ -C ₁₂ ; (12)-4 ϕ -C ₁₂ ; (13)- 3 ϕ -C ₁₂ ; (14)- 2 ϕ -C ₁₂ ; (15,16)-7/6 ϕ -C ₁₃ ; (17)-5 ϕ -C ₁₃ ; (18)- 4 ϕ -C ₁₃ ; (19)-3 ϕ -C ₁₃ ; (20)-2 ϕ -C ₁₃ AB.	70
Figura 11 – Extração de alquil benzeno linear com diversas fibras de SPME para a solução mistura padrão LAB (1 ϕ -C _{10~14} AB) nos modos inserção direta e <i>headspace</i>	74

Figura 12 Efeito do tempo de extração SPME para mistura padrão de LAB (1φ-C _{10~14} AB).	77
Figura 13 - Efeito salino na extração SPME para mistura padrão de LAB (1φ-C _{10~14} AB).	79
Figura 14 – Efeito da temperatura na extração SPME para a mistura padrão (1φ-C _{10~14} AB).	81
Figura 15 – Projeção dos escores na otimização da extração SPME no modo multivariado para a mistura padrão de LAB (1φ-C _{10~14} AB). Os sinais representam o nível do fator no planejamento fatorial (Tabela 8).	90
Figura 16 - Dendograma de <i>cluster</i> na otimização da extração SPME no modo multivariado para a mistura de LAB (1φ-C _{10~14} AB). Os sinais representam o nível do fator no planejamento fatorial (Tabela 8).	92
Figura 17 - Gráfico de Pareto para os efeitos de interação na otimização da extração SPME para somatória de LAB (1φ-C _{10~14} AB).	94
Figura 18 - Efeito do tempo de <i>splitless</i> na extração SPME de LAB entre 1 a 5 min.	97
Figura 19- Cromatograma por GC/MS no modo <i>Scan</i> e os espectros de massa correspondentes aos interferentes: A e B. Avaliação do branco de fibra (PDMS 30 μm).	99
Figura 20 - Cromatograma por GC/MS no modo <i>Scan</i> e os espectros de massa correspondentes aos interferentes: A, B, C e D. Avaliação do branco de método.	101

Figura 21 - Projeção dos escores obtidos a partir nas análises de LAB nas amostras de LAS, detergentes líquido e pó. **Detergente líquido:** 5a, 5b; 6a, 6b, 7a, 7b; 8a, 8b; 9; 10; 11. **Detergente em pó:** 2a, 2b, 2c; 3a, 3b; 4a, 4b. **LAS:** 1a, 1b. 107

Índice de Tabela

Tabela 1. Massa molar e solubilidade dos homólogos com isômeros internos e externos de LAS.	22
Tabela 2 - Padrões de LAB e suas formulas estruturais.....	50
Tabela 3 – Características, tempo e temperatura máximos de condicionamento recomendado para as fibras de SPME.	55
Tabela 4- Matriz de planejamento fatorial 2^4 e ponto central para extração SPME	61
Tabela 5 – Parâmetros definidos para extração de LAB obtidos no modo univariado e multivariado.....	62
Tabela 6 - Concentração de congêneres de LAB (mg.g^{-1}) encontrados na mistura industrial (quantificação baseada no isômero $1\phi\text{-C}_{10\sim 14}\text{AB}$) com $n=3$	71
Tabela 7- Matriz com o resultado das áreas da extração SPME para LAB utilizando o planejamento fatorial 2^4 com ponto central.....	85
Tabela 8 – Valores de efeitos e curvatura para os homólogos de LAB obtidos através da extração SPME utilizando o planejamento fatorial 2^4 com ponto central.	86
Tabela 9 – Correlação entre os homólogos de LAB para a extração SPME.....	89
Tabela 10 - Comparação entre os modos univariado e multivariado de otimização para extração SPME de LAB ($n = 5$).....	95
Tabela 11 - Dados da curva analítica na extração SPME para LAB.	102
Tabela 12 - Recuperação (%) obtida para os homólogos de LAB em amostra de detergente líquido ($n = 3$)	103

Tabela 13 – Média da concentração (mg.g^{-1}) de LAB encontrado em amostras de LAS e detergentes ($n = 3$).....	104
--	-----

1 INTRODUÇÃO

1.1 Química de tensoativos

Tensoativos são compostos orgânicos que possuem comportamento anfifílico, isto é possuem duas regiões hidrofóbica e hidrofílica. A parte hidrofóbica do tensoativo geralmente é composta de cadeias alquílicas ou alquilfenílicas, contendo de 10 a 18 átomos de carbono. A região hidrofílica é constituída por grupos polares que pode ser iônica (aniônica ou catiônica), não iônica ou anfótera ligados à cadeia carbônica¹. Conseqüências importantes da estrutura anfílica são: adsorção nas interfaces, por exemplo, solução/ar, e formação de diferentes estruturas coloidais, micelas, cristais líquidos liotrópicos e vesículas, entre outras². Tais propriedades são a base de uma gama de aplicações importantes, por exemplo, na formulação de agroquímicos³, fármacos e produtos de higiene (xampus, condicionadores), e no combate de vazamento de petróleo⁴. Os tensoativos podem ser classificados de acordo com a carga da cabeça hidrofílica: aniônicos, catiônicos, não-iônicos, e zwitteriônicos. O principal tensoativo aniônico sintético surgiu na década de 40, o alquilbenzeno sulfonato (ABS), a partir de compostos a base de petróleo (tetrâmero de propileno e benzeno)⁵. O ABS teve grande aceitação no mercado de detergentes devido ao melhor desempenho comparado ao do sabão que é sensível aos cátions bivalentes, sendo consumido mundialmente em larga escala. O uso deste produto provocou um problema sério nas estações de tratamento de esgoto, devido à formação de camadas densas de

espumas. As espumas dificultam os processos de aeração nos tanques de tratamento de efluentes, e levam ao transporte de inúmeros poluentes, e bactérias a distâncias longas. Na busca de solucionar o problema da formação excessiva de espumas foi constatado que o tensoativo ABS possui resistência a biodegradação em ambiente aquático devido, principalmente à presença de carbonos quaternários na sua cadeia hidrofóbica. Isso levou a sua substituição na maioria dos países por tensoativos biodegradáveis com cadeias alquílicas lineares⁶. Apesar disto, alguns países da América Latina ainda continuam utilizando o ABS na formulação de produtos de limpeza devido ao seu baixo custo⁷. Atualmente, os tensoativos aniônicos mais usados são o alquilbenzeno sulfonato linear (LAS) e álcoois graxos etoxilados e sulfatados⁸.

Em virtude da grande participação dos tensoativos aniônicos na produção de detergentes e o elevado consumo mundial do LAS, esse componente tem sido alvo de interesse de pesquisadores na área de controle ambiental. Os grandes volumes de LAS usados mundialmente (2,5 milhões de toneladas em 2000⁹ e uma perceptiva de produção de 3,4 milhões para 2010), assim como sua ampla distribuição no ambiente requer seu monitoramento com determinações exatas, conhecimento do seu destino e dos seus eventuais efeitos deletérios.

Recentemente, uma atenção especial tem sido dada para o risco ambiental do LAS no que se refere à fabricação, uso e controle do mesmo. O LAS atinge o ambiente através do esgoto doméstico e industrial que arrasta, entre outros contaminantes, os produtos de limpeza usados pelos consumidores. Os esgotos domésticos são normalmente tratados em sistemas de tratamento de esgotos

municipais, e os efluentes tratados são descarregados para os ambientes aquáticos e terrestres.

As concentrações de LAS encontradas no ambiente apresentam uma grande variabilidade devido à variação de consumo entre as diferentes áreas (urbana e rural, por exemplo), oscilações nas condições climáticas, eficiência do tratamento de esgoto.

1.2 Alquilbenzeno sulfonato linear (LAS)

O LAS é um tensoativo aniônico constituído de uma mistura de homólogos e isômeros de posição de cadeias alquiladas lineares variando de C_{10} a C_{16} com predominância de C_{10} a C_{13} ^{10,11} (Figura 1).

Onde:

$$n + n' = 7 - 11$$

Figura 1. Estrutura molecular do Alquilbenzeno sulfonato linear (LAS).

O grupo fenila do LAS pode apresentar substituição em todas as posições dos átomos de carbono da cadeia alquílica, exceto a posição do carbono 1, podendo formar 26 moléculas diferentes.

O Alquilbenzeno Linear (LAB), precursor do LAS, é obtido pela reação de alquilação de *Friedel-Crafts* do benzeno com olefinas lineares ou haletos de alquilas, utilizando catalisadores, tais como HF, AlCl_3 , mistura de zeólitas e óxidos metálicos (Detal[®]). Com intuito de aumentar a seletividade obtendo melhor qualidade do produto, sem perder atividade catalítica, tem-se usado o AlCl_3 suportado em sílica, o qual apresenta melhores resultados em relação ao AlCl_3 não suportado¹¹. Dependendo do processo catalítico de alquilação, HF ou AlCl_3 , a distribuição isomérica pode variar, especialmente para os isômeros com o grupo fenila na posição do carbono 2 da cadeia alquílica, o que leva a modificações das características do tensoativo^{12,13}. O processo utilizando HF é pouco usado por ser o catalisador uma substância corrosiva e altamente tóxica causando problemas ambientais e de segurança de processo¹⁴. Por outro lado, o catalisador Detal[®] tem-se mostrado promissor, pois possui eficiência reacional superior ao AlCl_3 no processo de alquilação obtendo LAB com baixo teor de impurezas insolúveis e com níveis altos de 2-fenilalcanos, o que permite aumentar a solubilidade do tensoativo melhorando o poder de detergência¹⁵.

O precursor LAB é transformado no tensoativo LAS pela reação de sulfonação, usando agentes sulfonantes, tais como H_2SO_4 , ou SO_3 gasoso. O uso do H_2SO_4 e oleum está diminuindo, uma vez que a sulfonação com SO_3 empregando reator em filme descendente é mais eficiente, e o produto é de melhor qualidade¹⁶. A reação de sulfonação do LAB retém cerca de 1 a 3% de material não sulfonado (LAB) incorporado no tensoativo e pode entrar no ambiente aquático através da descarga de esgoto doméstico¹⁷.

De acordo com o número de átomos de carbono e a posição do grupo fenila na cadeia alquílica, o LAS pode apresentar massa molar e solubilidade diferentes (Tabela 1)¹⁸.

Tabela 1. Massa molar e solubilidade dos homólogos com isômeros internos e externos de LAS.

Alquilbenzeno Sulfonato Linear								
Isômero	C ₁₀	C ₁₀	C ₁₁	C ₁₁	C ₁₂	C ₁₂	C ₁₃	C ₁₃
	I.E. ^a	I.I. ^b	I.E.	I.I.	I.E.	I.I.	I.E.	I.I.
Massa molar	320	320	334	334	348	348	362	362
Sol. (mg.L ⁻¹)	20	20	15	15	10	10	5	5
K (d ⁻¹) ^c	2,0	1,33	2,60	1,73	3,38	2,25	4,39	2,93

^a isômero externo; ^b isômero interno; ^c constante de biodegradação obtido a partir de estudo experimental¹⁸

O LAS é uma mistura de inúmeros homólogos e isômeros com diferentes massas moleculares (Tabela 1). Nessa mistura estão presentes homólogos que possuem número de átomos de carbono diferentes na cadeia alquílica. De acordo com a posição do grupo fenila na cadeia carbônica, têm-se os diversos isômeros de um determinado homólogo. Os isômeros externos (IE) são aqueles em que o grupo fenila está mais próximo ao átomo de carbono terminal da cadeia alquílica (2,3,4φ-C_n), enquanto que os isômeros internos (II) são aqueles que o grupo fenila está mais distante (5,6φ-C_n). Os isômeros externos e internos do mesmo homólogo não apresentam diferenças de solubilidade. Por outro lado, a solubilidade entre os homólogos é inversamente proporcional ao aumento da

cadeia alquílica variando de 5 a 20 mg.L⁻¹. O tamanho da cadeia linear e a posição do radical fenila na cadeia alquílica linear interfere na constante de biodegradação (k) obtido a partir de estudo experimental com lodo ativado. Os isômeros internos possuem constante de biodegradação inferior aos isômeros externos. Esse fato é importante no processo de remoção do tensoativo presente no meio ambiente, pois afeta a capacidade de degradação do mesmo.

O detergente sintético é um produto de composição complexa contendo vários componentes e, dependendo da sua aplicação pode possuir enzimas (amilase, lipase, protease), entre outros componentes, que auxiliam a remoção de manchas específicas (amido, gorduras, proteínas) e/ou branqueadores ópticos¹⁹ que aumentam o brilho e a alvura do tecido, mascarando o tom amarelado que pode aparecer em tecidos brancos.

1.3 Impacto ambiental

1.3.1 Efeitos ambientais e toxicológicos

Em 1991 a Associação Holandesa de Sabão e o Ministério do Meio Ambiente Holandês classificaram o LAS como composto prioritário na lista de compostos prejudiciais encontrados em ambiente hídrico²⁰.

A complexidade estrutural do LAS comercial torna difícil a tarefa de avaliação toxicológica dos componentes individuais. No passado, os efeitos toxicológicos para cada componente foram subestimados, mas atualmente podem ser estimados com um grau maior de confiabilidade, uma vez que se conhece

melhor a natureza química dos componentes²¹. Entre os problemas ambientais decorrentes do acúmulo de LAS nos recursos hídricos destacamos os seguintes efeitos:

(i) Diminuição na concentração de oxigênio dissolvido que é fundamental para a vida aquática e diminuição da tensão superficial água/ar e da permeabilidade da luz;

(ii) Aumento da concentração de compostos xenobióticos, como PCB e PAH presentes no sedimento, por solubilização micelar inibindo assim a degradação.²² O LAS foi também investigado para verificar se a bioacumulação por cádmio é favorecida na presença de LAS empregando bioindicadores de poluição marinha, mas os dados obtidos no estudo não foram conclusivos²³.

(iii) Bioacumulação, como foi constatado em Sáez, Espanha, em um estudo com bivalves e peixes nos quais foram encontrados valores de 1,29 a 2,98 $\mu\text{g.g}^{-1}$ para o homólogo com onze átomos de carbono na cadeia principal²⁴. Em outro estudo foram observados fatores de bioacumulação de 500 a 1300 usando bioindicador *Daphnia magna* e 4 a 9000 usando o peixe *Cyprinus carpio*¹⁰. Em alguns tipos de algas, como a *Nannochloropsis gaditana* e *Dunaliella salina*²⁵ em Cadiz, Espanha, foi evidenciado que ocorreu absorção do tensoativo e seus intermediários de degradação. A presença do LAS em concentração de 16 mg/kg foi também encontrado em arroz proveniente de plantações que receberam irrigação de efluente doméstico *in natura*²⁶.

(iv) Interferência em processos biológicos por inibir o processo de nitrificação conversão oxidativa na amônia em nitrato, que é promovido por certas

bactérias autótrofas como as *nitrossomas*, acarretando na mortandade de organismos²⁷.

Por outro lado, o LAS possui elevada taxa de toxicidade. Dentre os 39 componentes que são utilizados na formulação dos detergentes domésticos, verificou-se que os vários tensoativos são responsáveis por 10,4 a 98,8% com média de 40,7% da toxicidade medida através de testes biológicos. O aumento do tamanho da cadeia alquílica do LAS tem mostrado causar um aumento da toxicidade²⁸. Estudos ecotoxicológicos com bioindicador *Daphnia magna* indicaram que os homólogos de cadeias maiores têm o maior potencial toxicológico. Assim, foram encontrados valores de LC₅₀ (concentração letal na exposição de 50%) igual a 13,9 mg/L para o homólogo com dez átomos de carbono e 1,22 mg/L para o homólogo com quatorze átomos de carbono²⁹.

1.3.2 Mecanismo de remoção de LAS no meio ambiente

O LAS é um tensoativo considerado biodegradável por apresentar níveis de remoção na ordem de 98 a 99%^{30,31,32}. Níveis altos de biodegradação (97 a 99%) têm sido encontrados em sistemas de tratamento de efluentes usando processos aeróbicos. A biodegradação do LAS ocorre devido à atividade metabólica de certos microorganismos. Vários fatores interferem na destruição química do LAS, tais como concentração de oxigênio dissolvido, complexação com tensoativos catiônicos provenientes, por exemplo, de amaciantes de roupa, formação de sais insolúveis de cálcio e magnésio, presença de outros nutrientes orgânicos e a variação do pH durante a degradação aeróbica. Embora o principal mecanismo de

remoção do LAS seja a biodegradação existem outras formas de remoção tais como precipitação e adsorção³³. Em águas continentais o tempo de meia vida para remoção natural do LAS, segundo testes laboratoriais, é de aproximadamente 3 horas produzindo após esse período outros xenobióticos³⁴. Em condições aeróbicas, os processos de remoção natural em sedimentos evidenciam um maior grau de degradação aos homólogos de cadeia longa, já em condições anóxicas ($< 0,1 \text{ mg.L}^{-1}$ de oxigênio dissolvido) o mecanismo de remoção não está bem elucidado e a biodegradação é muito lenta³⁵.

A adsorção de homólogos de LAS nas partículas de sedimentos e solos influencia no seu destino, biodisponibilidade e toxicidade do detergente. Um estudo recente demonstrou que o aumento da dureza da água e da cadeia alquílica resulta em uma maior adsorção de LAS no lodo formado nas estações de tratamento de água residual, um sumidouro potencial para LAS no ambiente³⁶.

Estudos realizados em laboratório e em campo indicam que a biodegradação é preferencial aos homólogos de LAS de cadeia longa e aos isômeros externos, sendo que em laboratório a biodegradação é cerca de 2 a 3 vezes mais rápida do que no meio ambiente. A biodegradação em laboratório em condições anóxicas ($0,5 \text{ mg.L}^{-1}$ oxigênio dissolvido), entretanto, é pouco significativa³⁷.

A biodegradação pode ser dividida em duas etapas. Na primeira, ocorre a quebra da cadeia hidrofóbica do tensoativo provocando um aumento na concentração micelar crítica. Com essa modificação estrutural do tensoativo, algumas de suas propriedades são alteradas e alguns efeitos indesejáveis, tais como formação de espumas, são eliminados. Na segunda, os produtos resultantes

da degradação são transformados em CO₂, água e sais minerais³⁸. O principal mecanismo de biodegradação aeróbico do LAS envolve a degradação da cadeia alquílica, seguida do grupo sulfonato e finalmente do anel aromático (Figura 2)³⁹. A quebra da cadeia alquílica é iniciada com a oxidação do grupo metila terminal transformando-se através da oxidação enzimática (oxidação ω) em álcool, aldeído e posteriormente em ácido carboxílico (Figura 3A). Por sua vez, o ácido carboxílico é submetido à oxidação β que é catalisada por enzimas alcano monooxigenase e deidrogenases. Esse mecanismo de degradação ocorre predominantemente no meio ambiente (Figura 3B) devido a efeitos estéricos, a biodegradação aeróbica é preferencial para os isômeros externos do LAS. Por exemplo, para o mesmo intervalo o homólogo tem-se a degradação 2 ϕ -C₁₀ (96%), 3 ϕ -C₁₀ (92%), 4 ϕ -C₁₀ (68%) e 5 ϕ -C₁₀ (52%)⁴⁰. Nessas reações de oxidação, há a geração do subproduto transiente, o ácido sulfofenil carboxílico (SPC) (Figura 4)⁴¹. O SPC apresenta biodegradação seletiva decrescente em relação ao número de átomos de carbono dos homólogos (C₁₁>C₁₀>C₉>C₈>C₇). É interessante salientar que a toxicidade do SPC não está ainda bem definida, mas dados mostram que o SPC é aproximadamente 1,2 a 2,4 vezes mais tóxico do que o LAS⁴².

Outros estudos de remoção natural promovida por microorganismos evidenciam o metabolismo oxidativo do LAS levando a formação do alquilbenzeno linear (LAB) por dessulfonação microbiológica⁴³. Esse processo de dessulfonação microbiológica poderia explicar os níveis altos de LAB observados em algumas regiões⁴⁴.

Figura 2. Reação de biodegradação aeróbica do LAS⁴⁵.

Figura 3. Mecanismo de oxidação (A) ω e (B) β da cadeia alquílica durante a degradação do tensoativo⁸.

Figura 4. Estrutura química do ácido sulfofenil carboxílico (SPC).

1.4 Monitoramento

1.4.1 LAB como marcador de efluente doméstico

Sendo o precursor do LAS, o LAB apresenta a mesma mistura complexa de isômeros. Baseado na distribuição isomérica do LAB, estudos feitos com material proveniente do emissário de resíduo na Califórnia revelaram que o LAB presente no resíduo era similar aquele encontrado nos detergentes de uso doméstico⁴³. Em outros estudos realizados na baía de Tóquio concluíram que o LAB presente no sedimento poderia ser utilizado como indicativo de poluição aquática decorrente de detergentes de uso doméstico⁴⁶. Nesses estudos, foi mostrado que a composição isomérica do LAB pode variar através do processo de degradação seletiva promovida por microorganismos⁴⁷. A avaliação da composição isomérica do LAB permite estabelecer a sua capacidade de degradação no meio aquático.

Conforme mencionado anteriormente, os IE (2,3,4 ϕ -C_n) sofrem biodegradação preferencial aos II (5,6 ϕ -C_n). Assim, o índice II/IE representa uma estimativa da extensão da degradação comparativa dos isômeros⁴⁸. Um estudo feito com amostras de sedimento marinho coletado no porto de Boston revelou que os valores apresentados para o índice II/IE variaram de 0,3 a 3,3. Em áreas próximas a grandes centros os valores de II/IE foram menores que um, enquanto em áreas mais afastadas esses valores foram superiores a um⁴⁹. Em outro estudo no porto de Boston foi observada uma correlação alta entre os níveis de xenobióticos insolúveis, tais como, os PCBs ($r^2 = 0,87$) e o marcador fecal coprostanol ($r^2 = 0,96$) e para com os LAB⁵⁰. Em amostras de mexilhão presente na zona costeira da região sul e sudoeste da Ásia foram encontrados níveis de 10 a 1640 ng.g⁻¹ de LAB total e foram observadas concentrações maiores em áreas metropolitanas variando de 100 a 760 ng.g⁻¹. Os índices de II/IE obtidos nesse estudo sugeriram que os LAB presentes sofreram um processo de degradação mais lenta⁵¹.

1.5 Detergentes no Brasil

No Brasil a produção de detergentes sintéticos tem crescido expressivamente chegando alcançar cerca de 220 mil ton/ano de LAB e 80 mil ton/ano de LAS, sendo a DETEN (Camaçari, Bahia) a única fabricante de LAB no país⁵². Essa produção representa cerca de 10% da produção mundial e coloca o Brasil entre os principais produtores mundiais⁵³. A Associação Brasileira da

Indústria de Limpeza e Afins, ABIPLA, aponta que o Brasil é responsável por quase metade das vendas de produtos de limpeza da América Latina movimentando cerca de US\$ 5,3 milhões em 1998, com gasto *per capita* anual de US\$ 31,3.

Devido ao consumo expressivo de detergentes no Brasil, a falta de tratamento de esgoto doméstico nas regiões urbanas tem causado efeitos ambientais indesejáveis como a formação de espumas nas águas dos rios. Nesse sentido, o rio Tietê, um rio de grande extensão, que atravessa a região metropolitana da cidade de São Paulo, recebe o aporte de grande descarga indiscriminada de esgotos sofrendo um forte impacto antropogênico. Parte da extensão desse rio tem apresentado uma quantidade elevada de espumas proveniente de produtos de limpeza, o que tem chamado atenção da população e dos órgãos governamentais.

A formação de espumas no rio Tietê tem sido investigada pela Companhia de Tecnologia e Saneamento Ambiental (CETESB) a partir de 1984 e a presença de detergente linear biodegradável tem sido apontada como sendo a origem. A grande carga de poluentes despejada no percurso entre a cidade de São Paulo a Pirapora do Bom Jesus dificulta a biodegradação dos detergentes devido à condição anaeróbica, sendo esse o fator de formação de espumas nesse local⁵⁴. A turbulência de água nas turbinas de uma pequena hidroelétrica instalada próxima à cidade de Pirapora parece ser também um fator importante que contribui na formação de espumas. Um maior número de estações de tratamento de esgoto doméstico na região metropolitana de São Paulo certamente iria diminuir o nível de poluição desse rio.

A legislação no Brasil apresentada pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) apresenta a regulamentação do decreto nº79094 de 1977, na qual proíbe a fabricação, comercialização ou importação de tensoativo aniônico não biodegradável (ABS) e a resolução normativa nº1/78 DO de 1978 define os tipos de detergentes e os seus constituintes. Por outro lado, a comunidade econômica européia tem uma regulamentação mais completa para detergentes (EC nº 648/2002 de março de 2004), listando tensoativos e detergentes com especificação de biodegradabilidade, rotulagem do produto, informações de segurança e descrição dos testes realizados no produto.

No Brasil, entre outros países, a avaliação de detergentes nos rios, mananciais e águas costeiras é feita pelo método não seletivo MBAS que consta no *“Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater”*^{72,55}. Este método analítico tem características de ser simples, de baixo custo e sensível embora apresente algumas limitações que será discutida logo mais adiante. O resultado da avaliação com MBAS não tem sido considerado um parâmetro imprescindível de controle de avaliação hídrica. Apesar disso, é recomendado um valor menor ou igual a 0,5 mg MBAS.L⁻¹ para atender ao Índice de Parâmetros Mínimos para a Preservação da Vida Aquática (IPMCA), recomendado pela CETESB e incluído na resolução do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) 357/05 artigo 2 de 17 de março de 2005 para águas de classe 1, ou seja, águas com salinidade igual ou inferior a 0,5‰.

A CETESB classificou o Estado de São Paulo em 11 grupos denominados Unidades de Gerenciamento dos Recursos Hídricos (UGRHI), que atendem a lei

estadual nº 118 de 29/06/1973 e ao decreto estadual 36787. Estas 11 UGRHI são constituídas de 154 pontos de amostragem apresentando, em alguns pontos, níveis de tensoativo acima do IPMCA. Conforme o Relatório de Águas Interiores do Estado de São Paulo elaborado pela CETESB em 2003, o grupo 5, com os principais constituintes são os rios Capivari, Capivari-Mirim e Jundiaí (57 municípios) e o grupo 3, localizado na parte superior do rio Tietê (34 municípios) apresentaram índices baixos de tratamento de esgoto com 23 e 43%. Ambos os grupos 5 e 3 apresentaram níveis acima da referência do IPCMA. O município de Salto (SP), por exemplo, pertencente ao grupo 5 mostrou um índice de 75,57 mg.L⁻¹ de MBAS, valor 150 vezes maior que o de referência⁵⁶.

Em um estudo recente feito no estuário do litoral do Estado de São Paulo foram encontrados níveis de 0,15 a 2,08 mg.L⁻¹ de MBAS, sendo que a região de Cananéia mostrou ter os valores mais altos. Esses valores podem ser atribuídos ao grande aporte de esgoto não tratado nesse estuário⁵⁷. Medidas de LAS e seus metabólicos intermediários em amostras de rio foram feitas no Rio de Janeiro, 2000, cujas concentrações variaram de 14 a 155 µg.L⁻¹ para LAS e 1,2 a 14 µg.L⁻¹ para SPC⁵⁸.

Apesar de o LAB apresentar vantagens como marcador de efluente doméstico em relação ao LAS tais como estabilidade e biodegradação seletiva, poucos estudos com LAB foram realizados no Brasil. Recentemente um estudo com sedimento marinho no litoral do Estado de São Paulo mostrou níveis de concentração de 13 a 28 ng.g⁻¹ de LAB no canal de São Sebastião, onde os

homólogos C₁₀ a C₁₄ - LAB foram os predominantes e de 17 a 431 ng.g⁻¹ de LAB na baía de Santos, sendo os homólogos C₁₀ a C₁₂ - LAB os predominantes^{59,60}.

1.5.1 Métodos analíticos para determinação de LAS e LAB

Para a determinação de contaminantes ambientais, entre eles o LAS, é necessário usar critérios analíticos rigorosos para que as várias etapas, como a amostragem, transporte, estocagem e análise tenham o menor erro possível. Como o LAS em amostras de água pode sofrer degradação biológica durante a estocagem, a adição de biocidas, como o formaldeído à baixa temperatura (4°C), tem sido feita para manutenção da integridade das amostras⁶¹. Após 30 dias, sem a adição de formaldeído ou a acidificação do meio (pH = 3,0), verificou-se que o LAS é degradado entre 20 a 60%. Por outro lado, o armazenamento de amostras que contém LAS em cartuchos de extração em fase sólida C₈ ou C₁₈, mostrou-se bastante promissor. Empregando esse procedimento, o tensoativo tem se mantido estável por um período de 30 dias à temperatura de - 20°C⁶².

A análise de tensoativos aniônicos⁶³ pode ser feita empregando métodos não seletivos, tais como os colorimétricos e eletroquímicos e também métodos seletivos envolvendo cromatografia⁶⁴. Independente do método analítico, a determinação de tensoativo em matriz ambiental é, muitas vezes, um desafio analítico, uma vez que o tensoativo está presente em matrizes complexas em baixas concentrações. Além disso, o tensoativo também tem grande mobilidade no meio aquoso por ter características polares (pK_{ow} 2,7 a -1,6) e pode ser influenciado por fatores como diluição, degradação e interação no ecossistema.

Assim, matrizes na forma bruta normalmente apresentam interferências e incompatibilidades com métodos analíticos e necessitam de uma etapa de preparação da amostra. Para contornar tais problemas são empregados procedimentos de extração e pré-concentração do analito, a fim de atingir limites de detecção mais baixos.

Tabela 3: Métodos de análise para determinação do tensoativo LAS, seus produtos de degradação (SPC) e seu precursor (LAB).

Analito	Método de Preparação da amostra	Técnica de Detecção	Matriz (origem)	Comentários	Ref.
LAS/SPC	SPE/C ₁₈ /SAX	LC-MS	Água (mar)	51 a 98% ^b 2 a 20ppt ^c 0,4 a 10ppb ^d	85
LAS/SPC	SPE/ C ₁₈ /SAX	LC-Flu-DAD-MS	Água/sedimento (mar)	96% ±1,5% ^b	42
LAS/SPC	SPE/derivatização:	GC-MS	Água (rio)/ Lodo ^a	75 a 112% ^b 0,01µg.L ^{-1d}	76
LAS	Liq-liq/derivatização	GC-FID/MS	Lodo ^a	-	78
LAS/SPC	SPE/derivatização	GC-MS	Água (rio) /Efluente ^a	39 a 99% ^b	77
LAS	SPE/derivatização	GC-MS	Sedimento (rio)	79 a 113% ^b	83
LAS/SPC	SPE	CE-MS/LC-MS	Lodo ^a .	4,4 a 20µg.L ^{-1c}	84
SPC (quiral)	SPE	HPCE-DAD/HPLC-UV	Lodo ^a	1µg/L ^{-1c}	81
LAS/SPC	Soxhlet /SPE/C ₁₈	HPLC-UV	Água/sedimento (rio)/lodo ^a	94 a 98% ^b	80
LAS/SPC	SPE	HPLC-UV	Efluente ^a		68
LAS	Ultrason/SPE/Alumina/C ₁₈	HPLC-DAD	Caule e folha	83 a 93% ^b 0,3 a 5 µg.kg ^{-1d}	39
LAS/SPC	Soxhlet/SPE/ C ₁₈ /SAX	HPLC-Flu	Organismo marinho	80 a 104% ^b 15 a 30ng.g ^{-1c}	26
LAB	Soxhlet/SPE/silica	GC-FID/MS	Sedimento (mar)	96 a 103% ^b 5pg.g ^{-1c}	88
LAB	Centrifugação/SPE	GC-FID/MS	Sedimento (mar)	-	141
LAB	Soxhlet/SPE/silica/Florisil	GC-MS	Efluente ^a /sedimento (mar,rio)/detergente	81 a 94% ^b	46,47
LAB	Soxhlet/SPE/alumina	GC-FID/MS	Sedimento (mar) /efluente ^a	>60% ^b	48

A etapa de extração consiste em remover preferencialmente o analito da matriz separando os interferentes, tais como os ácidos fúlvico e húmico presentes na água, solo e sedimento. Na etapa de pré-concentração, o analito é concentrado até níveis adequados para a sua quantificação. As etapas de extração e pré-concentração permitem compatibilizar a amostra com a técnica analítica a ser empregada. Métodos de extração Soxhlet e líquido-líquido (LLE) são muito usados para a extração de LAS no sedimento. Recentemente foi desenvolvida uma técnica baseada na extração Soxhlet e auxiliada por micro-ondas que forneceu resultados de recuperação excelentes⁶⁵. O método de extração Soxhlet auxiliado por micro-ondas foi usado para extração de LAS no sedimento fornecendo resultados de recuperação cerca de 30% maior com 10% do tempo necessário para a extração Soxhlet convencional. A LLE⁶⁶ aplicada aos métodos não seletivos para determinação de tensoativos em água requer uma aparelhagem simples e de baixo custo. A LLE, entretanto, exige cuidados especiais na separação das fases devido à formação de emulsão, apresenta uma eficiência baixa, um consumo elevado de solvente com conseqüente geração de resíduo e um baixo isolamento de interferentes. A extração em fase sólida (SPE) é também uma outra técnica bastante usada para extração e pré-concentração de amostras ambientais que apresentam contaminantes polares e apolares em nível traço⁶⁷. A SPE requer aparelhagem simples, proporciona níveis altos de recuperação, isolamento do analito superior à LLE e ainda consome menor quantidade de solvente exigindo um tempo menor para extração⁶⁸. Por exemplo, a fase sólida C₁₈ tem sido utilizada em amostras de efluente provenientes de estações de tratamento de esgoto apresentando níveis de recuperação de 90% para LAS total.

Apesar de a SPE apresentar vantagens com relação aos métodos mais clássicos, tais como maior eficiência e praticidade, esta técnica tem ainda algumas limitações. Uma delas refere-se à etapa de eluição do analito retido no adsorvente sólido (na fase reversa ou de troca iônica) que requer o uso de solventes, muitas vezes, tóxicos⁶⁹.

Métodos não seletivos utilizam reagentes colorimétricos, principalmente o corante catiônico azul de metileno (MBA) para determinar espectrofotometricamente tensoativos aniônicos, inclusive o LAS. Devido à atração eletrostática, o MBA forma complexos hidrofóbicos (solúveis em clorofórmio)⁷⁰ com tensoativos aniônicos, como alquil sulfatos e sulfonatos e éteres alquil polioxietilénicos sulfatados, além de proteínas. Assim, outros tensoativos aniônicos, inclusive o sabão interferem na determinação de LAS⁷¹. No caso de amostras ambientais provenientes de estuários a qual a concentração dos íons cloreto é muito alta, é necessário adaptações do método de MBA para a determinação do tensoativo aniônico⁷². O método de MBA, recomendado por órgãos governamentais de diversos países, apresenta sensibilidade de 0,1 a 0,02 mg.L⁻¹ em amostras de água doce⁷³. Outro método não seletivo para determinação de tensoativos aniônicos tem empregado biosensores. Nesse caso, o método eletroquímico usado consiste na imobilização da bactéria *Trichosporon cutaneum* que tem a capacidade de degradar o tensoativo aniônico. Este sensor responde linearmente para concentrações acima de 6 mg.L⁻¹, sendo adequado para o monitoramento de áreas severamente poluídas. Uma resposta linear desse sinal, entretanto, não é observada para alguns tensoativos aniônicos, como o éter lauril polioxietileno sulfato. As principais vantagens desse método vêm a ser a

automatização do monitoramento contínuo *in situ* e a não utilização de solventes orgânicos. O efeito da matriz pode apresentar como uma desvantagem nesse método eletroquímico⁷⁴.

Existem métodos seletivos que permitem a determinação dos homólogos e isômeros dos precursores (LAB) e os tensoativos e seus produtos de degradação (Tabela 3) entre os quais destacam a cromatografia e a eletroforese capilar^{64,75}. Na quantificação de LAS e seus produtos de degradação, como EPS em amostras de água e sedimento, a cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS) tem sido empregada obtendo-se valores satisfatórios de limite de quantificação ($0,01 \mu\text{g.L}^{-1}$)⁷⁶ e recuperação (79 a 113%)⁷⁷. A principal desvantagem do método GC-MS, entretanto, é a necessidade da derivatização do analito devido à baixa volatilidade dos tensoativos. A derivatização conduz no tempo de análise maior e ainda pode alterar a integridade da amostra. O PCl_5 e/ou SOCl_2 têm sido empregado como agentes derivatizantes na determinação de LAS e seus produtos de degradação^{78,79}. A determinação do LAS e SPC tem sido feita por HPLC, usando fase reversa (octadecilsilano) e detectores UV-vis, de fluorescência, e de arranjo de diodos. O limite de detecção por fluorescência é menor que o limite de detecção por UV-vis, por outro lado o detector do arranjo de diodos alcança um limite de detecção na ordem de ppb (15 a 30 ng/g)²⁴.

Em virtude da complexidade estrutural de LAS e SPE, a resolução cromatográfica nem sempre é satisfatória, mesmo empregando corridas cromatográficas longas (70 min)⁸⁰. Assim, a eletroforese capilar (CE) torna-se uma ferramenta analítica alternativa para a determinação desses tensoativos e seus

produtos de degradação. Embora a separação por CE tenha a vantagem de ser mais rápida, a especificidade e a sensibilidade não são comparáveis à técnica cromatográfica. Inicialmente, a determinação do LAS e seus produtos de degradação por CE permitiam apenas a determinação do teor de LAS total, sem haver a especiação dos seus componentes. Recentemente, a adição de solventes orgânicos e tampões eletroforéticos permitiram reduzir a mobilidade eletrosmótica conduzindo à separação dos constituintes da mistura do LAS^{81,82}. O aumento da sensibilidade do método por CE foi possível empregando o detector de espectrometria de massas (CE-MS). Em um estudo para a determinação de LAS e SPC por CE-MS em condições otimizadas (coluna de sílica maior, uso de modificador orgânico e ajuste de pH) foram obtidos limites de determinação⁸³ entre 4,4 a 20 $\mu\text{g.L}^{-1}$, entretanto, foi necessário o monitoramento de diversos fragmentos devido à baixa resolução eletroforética. A CE tem sido aplicada em amostras de lodo e água residual para a separação de enantiômeros⁸⁴, o p-sulfofenil-2-butirato e o p-sulfofenil-3-butirato, intermediários dos produtos de degradação do LAS alcançando limite de quantificação de 1 $\mu\text{g.L}^{-1}$. A determinação desses enantiômeros permite avaliar o desempenho das etapas do tratamento de efluentes e monitorar os mananciais contaminados.

Uma técnica promissora para a determinação do LAS e SPE é a cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas (LC-MS), uma vez que não exige derivatização como na cromatografia em fase gasosa e apresenta uma maior sensibilidade, na ordem de ppt⁴². Apesar do desempenho analítico deste método ser boa (recuperação entre 51 a 98%, limite de determinação entre

2 a 20 ppt e limite de quantificação entre 0,4 a 10 ppb), para aumentar a sensibilidade do mesmo é necessário aplicar valores distintos de tensão de ionização para identificação (80V) e quantificação (20V)⁸⁵. Atualmente, a instrumentação LC-MS tem um custo elevado e, portanto é considerada uma técnica analítica ainda restrita.

A avaliação do impacto ambiental de detergentes domésticos no efluente doméstico é complexa devido aos inúmeros componentes que constituem a composição do detergente e sua interação no meio ambiente. A utilização do LAS como marcador de efluente doméstico nessa avaliação ambiental pode ser uma alternativa difícil devido a sua instabilidade. Ainda o LAS, por ser um composto polar, apresenta uma grande mobilidade no meio hídrico e conseqüentemente a resposta obtida através da sua determinação tem caráter local não permitindo a extrapolação para uma escala regional. Para minimizar essas desvantagens na avaliação ambiental tem-se utilizado o precursor do LAS, ou seja, o LAB, como marcador de efluente doméstico⁸⁶. Assim, tem-se adotado o LAB como marcador de efluente doméstico, e métodos de cromatografia em fase gasosa foram desenvolvidos nos últimos anos para sua determinação (Tabela 3). O primeiro método cromatográfico proposto empregou as seguintes etapas: (i) Extração em aparelho Soxhlet da matéria orgânica utilizando solventes orgânicos apolares; (ii) Uma etapa de “limpeza” do extrato, usando coluna de silica/cobre ou de sílica; (iii) Determinação da composição da amostra usando GC-MS. Esse método atingiu níveis de recuperação de 81 a 94% para os homólogos 1-C_{11~14} para diversas matrizes. O espectrômetro de massas e a ionização por chama têm sido usados para identificação e quantificação de marcadores moleculares em amostras

ambientais, tais como LAB, cropostanol e trialquilaminas. Nesse método⁴⁸, o qual apresenta níveis de recuperação superiores a 60%, é usada a alumina na etapa de “limpeza” e empregado um fracionamento com diferentes solventes. A alumina nem sempre retém todos os interferentes, tais como, o alquilbenzeno não linear que são os precursores dos tensoativos alquilbenzeno sulfonato não linear e podem coeluir na separação cromatográfica com o LAB. A discriminação de ambos precursores dos tensoativos pode ser possível através da análise dos seus espectros de massas, pois os fragmentos mais intensos do LAB são 91, 105 e 133 (m/z) e dos não-lineares 91 e 119 (m/z)⁸⁷. Na literatura tem disponíveis dois estudos distintos de avaliação de LAB presente em detergentes comerciais^{43,86}. Um destes estudos apresenta que a concentração de LAB totais varia de 21 a 5040 $\mu\text{g.g}^{-1}$ para detergentes do tipo líquido e granulado, enquanto o outro estudo apresenta concentração de 98 a 708 $\mu\text{g.g}^{-1}$ o qual os homólogos majoritários são o C_{12}AB e C_{13}AB .

Recentemente o método proposto para marcador de efluente doméstico foi validado para sedimento marinho, utilizando calibração inter-laboratorial, padrão interno marcado isotopicamente e material certificado de sedimento marinho (SRM 1941a) pela *National Institute of Standards and Technology* (NIST) obtendo níveis de recuperação entre 96 a 103% e limite de determinação de 5 ng.g^{-1} . A calibração inter-laboratorial foi feita por dois centros de pesquisa, cujos métodos diferiram apenas na etapa de extração, sendo que um usou a extração em Soxhlet e outro a centrifugação e a LLE. A sílica gel foi empregada na etapa de *limpeza* e a GC-MS⁸⁸ foi utilizada para a identificação e quantificação.

Nos últimos anos, a micro-extração em fase sólida (SPME) tem sido uma técnica alternativa para a determinação de contaminantes ambientais de características polares e apolares apresentando vantagens operacionais e analíticas interessantes^{89,90,91,92}. Métodos analíticos empregando SPME têm sido desenvolvidos para a determinação de PAH e PCB, tais poluentes assim como o LAB possuem alto coeficiente de partição^{93,94}.

1.6 Microextração em fase sólida (SPME)

A SPME foi desenvolvida na década de 90 com o objetivo de facilitar e agilizar a preparação da amostra seja no laboratório ou em trabalho de campo, pois essa etapa pode comprometer 75% do tempo de análise. Em comparação a outras técnicas relativas ao preparo de amostras, a SPME apresenta algumas vantagens tais como operação simples, portabilidade, não exige modificações especiais no equipamento, manipulação reduzida das amostras o que minimiza a possibilidade da formação de artefatos, e baixo consumo de solventes. A SPME é uma microtécnica, em que processos de extração e pré-concentração de analitos ocorrem simultaneamente. A SPME constitui numa versão miniatura da extração em fase sólida (SPE)⁹⁵ e está baseada no equilíbrio de partição do analito e no filme extrator⁹⁶. A extração por SPME é baseada na absorção ou adsorção do analito seguida pela dessorção do extrato concentrado que é transferido para o instrumento analítico para sua análise. Para que as moléculas do analito se desloquem da matriz e penetrem no adsorvente, tem-se a necessidade de transpor as resistências a transferência de massa para que se estabeleça o

equilíbrio de partição do analito, entre a fibra e o meio que a envolve. Assim a teoria de SPME baseia-se na cinética de transferência entre as fases e na termodinâmica que descreve o equilíbrio entre as fases. A SPME depende das características físico-químicas do analito⁹⁷ e pode ser efetuada por dois modos: *headspace* onde o filme extrator fica exposto no espaço confinado sobre a amostra (processo estático) e inserção direta onde o filme extrator fica inserido no meio aquoso sendo influenciado fortemente pela velocidade de transferência de massa (processo dinâmico).

O SPME acoplado ao GC/MS apresenta o benefício de monitoramento do sinal analítico sem que tenha o corte de solvente o que não ocorre nas análises cromatográficas convencionais por injeção com microseringa. Essa vantagem de não utilizar solvente na extração SPME possibilita em um aumento significativo na sensibilidade analítica⁹⁸.

A seletividade na extração depende da característica da fibra a ser utilizada que podem ter características polares, apolares ou mistas. O sorvente que é reutilizável, por exemplo, polidimetilsiloxano (PDMS) que tem característica apolar com grande afinidade com compostos também apolares como demonstrado na quantificação de HPA e bifenilas policloradas (PCB) presentes em água com desvio padrão de 10% (HPA) e 20% (PCB) comparáveis ao método EPA 625⁹⁹. Outro tipo de polímero o poliacrilato (PA) tem características polares é aplicado a compostos mais polares¹⁰⁰ como triazinas e pesticidas organoclorados que demonstram altos valores de coeficiente de partição¹¹⁹, Esses filmes extratores também pode ser eficiente quando aplicado em alguns HPAs com até 4 anéis aromáticos como o fluoreno e o pireno em amostras de solo e água. Além do

modo de extração e do tipo de fibra outros parâmetros podem influenciar tais como tempo e temperatura de absorção e dessorção, efeito salino, variação do pH, volume da amostras e agitação¹⁰¹. O tempo de extração ou equilíbrio é um parâmetro importante na transferência de massa e poderia ser longo para certos casos, pois para atingir o equilíbrio entre as fases tem influências de outras variáveis como da espessura do filme e do coeficiente de difusão do soluto. Devido às incertezas experimentais inerentes às extrações por SPME, considera-se, como um tempo prático que corresponde à extração de 95% da massa que seria extraída após um tempo infinito de extração. No caso da determinação por SPME dos 16 HPAs prioritários em amostras de água o naftaleno necessita de 20 min de extração, enquanto o fluoreno 90 min e outros HPAs mais pesados 720 min de extração¹⁰². A temperatura modifica a constante de distribuição do analito podendo facilitar sua transferência no meio. O efeito da temperatura se mostra bastante significativo no modo *headspace*, onde os analitos necessitam passar para a fase gasosa para que ocorra a extração. No campo da botânica temos vários exemplos que mostram o efeito da temperatura na extração SPME como a avaliação de voláteis biogênicos emitidos por flores¹⁰³, folhas de plantas aromáticas¹⁰⁴ e ou frutos brasileiros¹⁰⁵. No monitoramento em saúde ocupacional usando o SPME temos a determinação de formaldeído¹⁰⁶ e poluentes voláteis (BTEX)¹⁰⁷ presente no ar atmosférico. O aumento da força iônica outra variável, *salting out*, diminui a solubilidade de compostos apolares acelerando o processo de extração como acontece na análise de MTBE¹⁰⁸ e a variação de pH para herbicidas mostra efeito seletivo entre o analito e seus metabólitos na cinética de

transporte no meio aquoso¹⁰⁹. No entanto o efeito salino e a variação de pH não se mostram significativos para compostos apolares como o HPA¹¹⁰.

A técnica de SPME tem sido amplamente difundida, sendo que 40% dos trabalhos estão relacionados a aplicações ambientais, 20% em aplicações forenses e clínicas, 20% em aplicações botânicas e em análise de alimentos, 15% no desenvolvimento de fundamentos de extração e 5% em artigos de informações gerais¹¹¹. Entre todos esses campos de aplicação, maior parte deles têm sido aplicados em cromatografia a gás com detectores seletivos e minoria em cromatografia em fase líquida. Esta desproporção entre aplicações com SPME para a cromatografia a gás e líquida representa a facilidade de automação para cromatógrafo a gás^{112,113}. A SPME tem sido aplicada em diferentes matrizes tais como água, ar, solo e biota com amostras de origem variada. Na aplicação ambiental incluem determinações de poluentes orgânicos presentes em água^{114,115,116} tais como organofosforados¹¹⁷, organoclorados¹¹⁸, PCBs^{119,120}, clorobenzenos¹²¹, HPAs^{122,123,124}, antiespumante¹²⁵, nitroaromáticos¹²⁶, no material particulado atmosférico os HPAs¹²⁷, compostos orgânicos voláteis presentes no ar¹²⁸ e semi voláteis presentes em solo¹²⁹. Em alimentos temos o monitoramento do arroz¹³⁰, mel¹³¹ e doces¹³². Na análise diagnóstica com abusos de drogas que podem ter efeito anabolizante¹³³. Alguns estudos têm conseguido desenvolver protótipos de extração de baixo custo com os mesmos princípios da SPME conseguindo resultados comparáveis ou melhores ao sistema comercial^{134,135}.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Desenvolver um método analítico de aplicação simples e adequado para LAB em formulações de detergentes de uso comum, podendo posteriormente adequação deste método na avaliação ambiental de LAB como marcador de efluente doméstico.

2.2 Objetivos Seletivos

Desenvolver um método por GC/MS com SPME para determinações analíticas de LAB em detergentes comerciais.

Avaliar as condições cromatográficas e parâmetros que influenciam a extração utilizando o método univariado e multivariado.

3 PARTE EXPERIMENTAL

3.1 Materiais

3.1.1 Padrões

Os padrões de LAB (Tabela 2) foram de procedência Fluka[®] com grau de pureza superior a 99,5%. Para a quantificação dos homólogos de LAB foram utilizados os seus respectivos isômeros com o radical fenila na posição do carbono 1 da cadeia alquílica, pois os outros isômeros não estão disponíveis comercialmente com o grau de pureza necessária. Os padrões homólogos foram mantidos sob refrigeração a -20°C. Foi possível obter uma amostra industrial de LAB de procedência Deten[®] para identificação dos congêneres e isômeros.

3.1.2 Solventes e reagentes

Nos procedimentos para otimização da extração de LAB foram utilizados acetonitrila e metanol com grau cromatográfico de procedência Mallinckrodt[®]. O sal Na₂SO₄ da Merck[®] foi utilizado também na etapa de extração e foi previamente calcinado na mufla à 500°C por 6 horas para eliminação de resíduos orgânicos.

Tabela 2 - Padrões de LAB e suas formulas estruturais.

Alquilbenzeno Linear (LAB)

1 fenil decano 1 ϕ -C ₁₀ AB (MM 218,38)	undecil benzeno 1 ϕ -C ₁₁ AB (MM 232,41)

dodecil benzeno 1 ϕ -C ₁₂ AB (MM 246,44)	tridecil benzeno 1 ϕ -C ₁₃ AB (MM 260,46)

tetradecil benzeno 1 ϕ -C ₁₄ AB (MM 274,49)	

Preparação da solução estoque de LAB

Para o preparo da solução estoque foi retirado os padrões de LAB do freezer até alcançar a temperatura ambiente. Logo após ambiente transferiu-se com uma microseringa 6 μL de cada homólogo de LAB para um balão volumétrico de 10 mL completando-se o volume com acetonitrila. A solução estoque dos 5 homólogos de LAB de concentração igual a 500 $\mu\text{g}.\text{mL}^{-1}$ foi armazenada sob

refrigeração à -20°C . A partir desta solução foram preparadas as soluções para os experimentos e também para construir as curvas analíticas.

3.2 Instrumentação analítica e condições operacionais

3.2.1 GC/MS

A determinação dos LAB foi efetuada em cromatógrafo a gás acoplado a um espectrômetro de massas (GC/MS); Shimadzu modelo GC/MS-QP5000. A aquisição dos dados foi feita através do *software* Class 5000 versão 2.10. No cromatógrafo empregou-se um injetor tipo *split/splitless* com insersor de diâmetro ($\phi = 0,75\text{ mm}$) interno especial para SPME e uma coluna capilar de sílica fundida com fase estacionária quimicamente ligada de poli (5% de difenil e 95% dimetilsiloxano) com 30 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro e 0,25 μm de espessura de filme de espessura. (DB-XLB *J&W Scientific*®).

Parâmetros utilizados no cromatógrafo:

- gás de arraste Hélio ultra puro (pureza 99,999%)
- fluxo constante na coluna de $1\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$
- fluxo total: $50,3\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$
- Velocidade linear: $32\text{ cm}\cdot\text{s}^{-1}$
- Injeção no modo *splitless* $\rightarrow$ tempo 2 min.

Na Figura 5 é mostrado o programa de temperatura e pressão empregado. A rampa de temperatura do forno do cromatógrafo foi de 155°C à 210°C com taxa

de aquecimento de $5^{\circ}\text{C min}^{-1}$ e permanência de 5 min e pressão de gás de arraste aplicada no topo da coluna de 95,3 à 115 kPa (taxa de pressão de $1,1 \text{ kPa min}^{-1}$) e permanência de 5,4 min para manter o fluxo na coluna constante de 1 mL min^{-1} .

Figura 5 - Gráfico das rampas de aquecimento e pressão utilizadas na análise por GC/MS.

O espectrômetro de massas com fonte de ionização por impacto de elétrons (EI -70 eV) e analisador de massas quadrupolo, foi operado nos modo *scan* para identificação e *SIM* (*selected ion monitoring*) para quantificação dos compostos. Os parâmetros utilizados no espectrômetro de massas foram:

Temperatura da fonte de ionização: 240°C

No modo *Scan* $\rightarrow$ variação de m/z 45 a $350m/z$, scan rate = $0,5s$

No modo *SIM* foram monitorados os íons 91, 92 e 105 (m/z), característicos do alquilbenzeno linear e foram utilizados os íons 91, 92 e 105 (m/z) para quantificação.

3.2.2 SPME

O sistema para SPME consiste em um fino cilindro de sílica fundida com 10 mm na sua extremidade recoberto por uma camada polimérica ou um adsorvente líquido adaptado a um suporte similar a uma seringa denominado amostrador (Figura 6). Nessa camada polimérica que possui espessura entre 7 a 100 μm e volume entre 0,026 a 0,616 μL ocorre o fenômeno de extração que pode ser por adsorção e/ou absorção dos analito (Tabela 7). Na etapa de extração, a fibra é exposta diretamente a amostra empurrando-se o êmbolo para baixo e travando na metade da guia em “Z”. Após o tempo de extração, a fibra é retraída puxando o embolo para cima no amostrador, como forma de proteção até que seja exposta novamente na etapa de dessorção.

Figura 6. Sistema para extração por SPME.

As fibras recobertas com fases estacionárias diferentes (Supelco®): Polidimetilsiloxano (PDMS), Polidimetilsiloxano/Divinilbenzeno (PDMS/DVB), Carboxen/Polidimetilsiloxano (CR/PDMS), Carbowax/Divinilbenzeno (CW/PDMS) e Poliacrilato (PA) foram previamente condicionadas no injetor do cromatógrafo de acordo com o tempo e temperatura recomendados pelo fabricante. Para facilitar o condicionamento tem sido desenvolvido protótipo de equipamento seletivo para auxiliar nesse procedimento¹³⁶. As condições de condicionamento empregadas estão apresentadas na Tabela 3. O condicionamento foi realizado no cromatógrafo com a válvula de *split* aberta para reduzir a contaminação da coluna com o

possível sangramento da fibra e minimizando os contaminantes que possam causar interferência na linha base.

Tabela 3 – Características, tempo e temperatura máximos de condicionamento recomendado para as fibras de SPME.

Fibra	Espessura (μm)	Volume (μL)	Tempo (min)	Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)
PDMS ^{a,d}	100	0,612	60	250
	30	0,132	60	250
	7	0,026	120 a 240	320
PDMS/DVB ^{b,e}	65	0,357	30	260
CR/PDMS ^{b,e}	75	0,436	30	280
PA ^{c,d}	85	0,616	120	300

polaridade: a – apolar, b – mista, c – polar; interação: d – absorção, e – adsorção

A fim de obter uma agitação eficiente com auxílio de uma barra magnética (PTFE) foi utilizado um agitador magnético com aquecimento à temperatura controlada (Corning[®] model. PC-420). Para que a agitação magnética seja controlada para a formação do vortex foi empregado 60% da potência do agitador pois, acima deste valor há descontrole da barra magnética em solução aquosa. Para a temperatura permanecer homogênea na solução foi confeccionado um bloco de alumínio (Figura 7) para envolver um frasco âmbar de 4 mL. A

temperatura foi monitorada com termopar tipo K do termo hidrômetro digital (Minipa MTH- 1380) que foi inserido no bloco de alumínio.

Figura 7 - Dispositivo em alumínio para manter uniforme a temperatura na extração SPME (medida da em mm).

3.3 Desenvolvimento do método analítico

3.3.1 Mistura industrial de LAB

Para avaliar as condições do cromatógrafo a gás e do espectrômetro de massas preparam-se duas soluções com os padrões puros de $1\phi\text{-C}_{10\sim 14}\text{AB}$ com concentração de 10 mg.L^{-1} (LAB 10), e em seguida uma outra solução de uso industrial de LAB com concentração aproximada de 40 mg.L^{-1} , (LABDT 40) ambas em acetonitrila. Inicialmente foi injetado com auxílio de uma microseringa $1\mu\text{L}$ de

cada solução e uma mistura na proporção 1:1 das soluções LAB 10 e LABDT 40 no modo *scan*. Com as injeções dessas soluções foi possível avaliar a seletividade e os componentes constituintes da solução de LABDT 40 (mistura de uso de uso industrial).

3.3.2 Desenvolvimento de método por SPME-GC/MS

Como visto anteriormente vários parâmetros influenciam a extração SPME item 1.3 e se torna necessário estabelecer as condições ótimas de extração. Esses parâmetros foram avaliados no modo univariado o qual cada fator é analisado individualmente e no modo multivariado onde todos fatores são analisados simultaneamente. No estudo de avaliação no modo multivariado foi empregado um tipo particular de planejamento experimental, o planejamento fatorial de dois níveis baseado em Box, Hunter e Hunter^{137,138}. O planejamento fatorial utilizado foi completo 2^4 com triplicata de ponto central para que seja avaliado o desvio entre os experimentos. A partir do estudo de avaliação dos dois modos, univariado e multivariado, foi possível estabelecer a melhor condição de extração.

3.3.3 Otimização Univariada

Este método de otimização avaliou cinco parâmetros os quais são modo de extração (*headspace* e inserção direta), tipo e espessura da fase extratora, tempo e temperatura de extração e efeito salino.

3.3.3.1 Modo de extração e tipo de fase extratora

Em um frasco de 4 mL (âmbar) com tampa de polipropileno e septo de silicone-PTFE (politetrafluoroetileno) sob agitação magnética foram adicionados 3 mL de água deionizada e uma alíquota de 200 μL da solução padrão de LAB ($1\phi\text{-C}_{10\sim 14}\text{AB}$) em uma concentração de $100\text{ }\mu\text{g.mL}^{-1}$. Para ambos os modos de extração, *headspace* e direto, foi utilizado a mesma adição de padrão de LAB com todas as fibras descritas no item 1.3, sob agitação constante, temperatura ambiente e tempo de extração de 15 min. Logo após a extração foi feita a inserção da fibra no injetor durante toda a corrida cromatográfica para a remoção total dos analitos adsorvidos. Para que seja avaliada a completa dessorção do analito insere-se novamente a fibra no injetor, tendo-se assim nova dessorção denominada *carry-over*.

3.3.3.2 Tempo de extração

Para avaliação do tempo de extração foi utilizado a fibra PDMS 30 μm no modo inserção direta previamente definidos nas condições descrita no item 3.3.3.1. As condições experimentais seguem a descrição também do item 3.3.3.1. Os intervalos estudados de otimização de tempo de exposição da fibra na solução aquosa foram 5, 15, 30, 50, 80, 120 min com agitação constante.

3.3.3.3 Concentração salina

Para avaliação do efeito salino foi utilizado as concentrações de Na_2SO_4 de 0, 5, 10, 15% (m/v) em solução aquosa de LAB em água deionizada, sob agitação constante e extração no modo inserção direta com as fibras de PDMS 30 μm , durante 30 min no modo direto previamente definido no item 3.3.3.2

3.3.3.4 Temperatura

Para avaliar a melhor condição de extração foram feitas extrações às temperaturas de 25, 35, 45, 50, 55 e 65° C em solução do LAB em solução salina de 10%, utilizando a fibra PDMS 30 μm no modo inserção direta, durante 30 min, com agitação constante previamente definido no item 3.3.3.3. A temperatura do frasco âmbar de 4 mL foi mantida uniforme com o auxílio do anteparo de alumínio (Figura 7) sendo monitorada com o termopar do termo hidrômetro digital MTH-1380 Minipa®.

3.3.4 Otimização Multivariada

Para o desenvolvimento da extração com SPME no método multivariado utilizou-se o planejamento fatorial 2^4 com triplicata de ponto central, e foram avaliados os fatores: espessura de recobrimento da fase extratora, tempo e temperatura de extração e efeito da concentração salina. Os procedimentos para

planejamento fatorial seguem a mesma concentração do analito descrito no item 3.3.3 as condições empregadas estão descritas na Tabela 4.

Os resultados obtidos foram tratados com o programa estatístico Statistica versão 6.0 (Statsoft, USA).

Tabela 4- Matriz de planejamento fatorial 2^4 e ponto central para extração SPME

Fatores		+	-	0
A	Espessura de filme (μm)	100	7	30
B	Tempo (min)	50	20	35
C	Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	50	25	40
D	Efeito salino (% m/v)	10	0	5

A	B	C	D
-	-	-	-
-	-	-	+
-	-	+	-
-	-	+	+
-	+	-	-
-	+	-	+
-	+	+	-
-	+	+	+
+	-	-	-
+	-	-	+
+	-	+	-
+	-	+	+
+	+	-	-
+	+	-	+
+	+	+	-
+	+	+	+
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0

3.3.5 Univariada *versus* multivariada

Uma vez definidos os parâmetros de extração SPME nos modos univariado e multivariado (Tabela 5) foi realizado a comparação entre eles.

Tabela 5 – Parâmetros definidos para extração de LAB obtidos no modo univariado e multivariado.

Parâmetros	Univariado	Multivariado
modo	Inserção direta	Inserção direta
fibra (μm)	PDMS 30	PDMS 30
temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	35	50
conc. salina (%)	10	5
tempo (min)	30	50

Para este estudo de comparação foram realizadas extrações com os parâmetros descritos na Tabela 5 em quintuplicata com adição de *spikes* de LAB. As soluções foram preparadas a partir de adição de alíquotas de 100 μL solução de LAB (1 ϕ -C_{10~14}AB) na conc. 100 $\mu\text{g. mL}^{-1}$ para o volume de 4 mL de água deionizada em frasco âmbar 4 mL (com capacidade de 4,7 mL). Após a extração a fibra foi inserida diretamente no injetor do cromatógrafo onde ocorreu a dessorção dos analitos.

3.3.6 Tempo de *Splitless*

No processo de quantificação após a extração os analitos necessitam serem termicamente desorvidos do para a coluna cromatográfica garantindo a máxima sensibilidade e minimizando a introdução de interferentes. Assim uma vez definido o método de extração no modo multivariado (Tabela 5), determinou –se o tempo de desorção (*splitless*) para injeção do analito. Para esse estudo foi utilizada uma solução aquosa contendo os LAB (1 ϕ -C_{10~14}AB) na concentração de 10 $\mu\text{g mL}^{-1}$ em água deionizada para os intervalos de *splitless* de 1, 2, 3, 4 e 5 min.

3.3.7 Parâmetros de validação do método analítico

3.3.7.1 Análise dos brancos

Durante toda a parte experimental foram realizados brancos de instrumentação (injetor, coluna e detector), fibras de SPME para verificar a possível presença de contaminantes.

3.3.7.2 Curvas analíticas

Foram analisadas soluções de LAB (1 ϕ -C_{10~14}AB) de concentração 0,5; 1,0; 3,0; 15,0; 25,0; 35,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$ conforme as condições estabelecidas.

3.3.7.3 Efeito memória

Após extração com a metodologia definida foram realizadas duas injeções seqüenciais e consecutivas, sendo que a segunda injeção avaliou-se a completa dessorção do analito. Essas injeções representam a dessorção térmica incompleta da fibra conhecida como “efeito memória”.

3.3.7.4 Recuperação do método

Para a avaliação de recuperação do método analítico foi empregado a adição de padrão interno (PI) com 3 níveis de concentração. A matriz consiste em uma amostra de detergente na forma líquida (amostra 6) que facilita a quantificação por (PI), pois apresenta menor concentração do tensoativo LAS e conseqüentemente de LAB. Em frasco âmbar de 4mL foram pesados 250 mg da amostra 6 e dissolvidos em solução salina de 10% até 4 mL. A solução resultante foi adicionada os LAB (1 ϕ -C_{10~14}AB) e a seguir foi realizada a extração SPME. Os LAB adicionados para o estudo de recuperação foram nas concentrações de 1, 3, 15 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

3.4 Análise das amostras

Várias amostras de detergentes na forma líquida das marcas Limpol, Ypê, Minuano, Branca de neve, Big Top, Paête (n= 7) e granular da marcas Pop, Minerva e Biju (n= 3) disponíveis no mercado com diferentes procedências e lotes de produção foram analisadas. Uma amostra do tensoativo LAS também foi analisada. Para a análise foram pesados cerca de 270 mg para detergente forma líquida, 80 mg para detergente forma granular e 12 mg para o tensoativo LAS. As amostras foram dissolvidas em solução salina de 10% de Na_2SO_4 e as análises foram realizadas conforme as condições otimizadas de extração. Para as amostras de detergente em pó foi necessário o banho de ultra-som cerca de 15 min para facilitar a solubilização dos mesmos.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Análise da mistura industrial de LAB por GC/MS

O precursor do tensoativo o LAB pode ser obtido de processos industriais distintos o que modifica não somente características físico-químicas, mas também outros parâmetros como a biodegradação¹⁰. Embora tenha alguns estudos na literatura de análise ambiental de LAB presentes em sedimentos e detergentes, isso não se aplica a mistura industrial de LAB utilizada como matéria prima no processo de síntese do LAS. Com o intuito de conhecer essa mistura industrial de LAB foi realizada uma análise por GC/MS.

4.1.1 Identificação

As Figuras 9 e 10 mostram respectivamente o cromatograma de íon total (TIC) e os espectros de massa obtidos com injeção direta de 1 μL em GC/MS à partir da solução mistura de padrão de LAB 10 ($1\phi\text{-C}_{10\sim 14}\text{AB}$) de conc. 10 mg.L^{-1} e solução de LAB industrial de conc. 40 mg.L^{-1} conforme metodologia descrita no item 3.3.1.

Figura 8- Cromatograma de íon total (GC/MS-SCAN) dos 25 LAB em solução descrita no texto. **Mistura industrial:** (1)-5 ϕ -C₁₀; (2)- 4 ϕ -C₁₀; (3)-3 ϕ -C₁₀; (4)- 2 ϕ -C₁₀; (5)-6 ϕ -C₁₁; (6)- 5 ϕ -C₁₁; (7)-4 ϕ -C₁₁; (8)- 3 ϕ -C₁₁; (10)- 2 ϕ -C₁₁; (11)-6 ϕ -C₁₂; (12)- 5 ϕ -C₁₂; (13)-4 ϕ -C₁₂; (14)- 3 ϕ -C₁₂; (16)- 2 ϕ -C₁₂; (17,18)-7/6 ϕ -C₁₃; (19)-5 ϕ -C₁₃; (20)- 4 ϕ -C₁₃; (21)-3 ϕ -C₁₃; (23)-2 ϕ -C₁₃AB **Padrão:** (9)-1 ϕ -C₁₀; (15)-1 ϕ -C₁₁; (22)-1 ϕ -C₁₂ (24)-1 ϕ -C₁₃; (25)-1 ϕ -C₁₄AB.

Observa-se na Figura 8 os picos pertencentes da mistura padrão de 1 ϕ -C_{10~14}AB destacados (9,15,22,24,25) e os dezenove picos (1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,16,17/18,19,20,21,23) da mistura industrial de LAB. O indicativo dos homólogos constituintes presentes na mistura industrial de LAB foi possível com a avaliação do índice de similaridade dos espectros de massas do GC/MS e dos fragmentos característicos como observado na Figura 9. Os isômeros de alquil benzeno linear com 10 átomos de carbono na cadeia principal apresentam padrão seletivo de fragmentação. Pode-se verificar a presença do íon característico mais intenso m/z 91 para os isômeros 5,4,3 ϕ -C₁₀AB e 105 para 2 ϕ -C₁₀ AB e 92 para o isômero padrão 1 ϕ -C₁₀AB.

Figura 9 – Espectros de massa dos isômeros do homólogo $n\phi$ -C₁₀AB.

Esses íons mantêm-se presentes para os demais homólogos, onze a quatorze átomos de carbono na cadeia principal. Esses fragmentogramas permitem a identificação dos isômeros de LAB dos demais componentes comparando-se com os espectros de referência na biblioteca de espectros de massas. O grau de confiabilidade do composto se torna maior quando os valores

de índice de similaridade são superiores a 80. Os homólogos da mistura padrão tais como $1\phi\text{-C}_{10\sim 14}\text{AB}$ apresentaram intensidade de sinal analítico semelhante independentemente do número de átomos carbonos da cadeia principal. Entre os picos da mistura padrão de LAB e a mistura industrial também não verificou-se coeluição. A separação cromatográfica para os isômeros internos ($4,3,2\phi\text{-C}_{10\sim 13}\text{AB}$) foi boa enquanto para os isômeros externos ($7,6,5\phi\text{-C}_{10\sim 13}$) não ocorreu o mesmo comportamento. A resolução cromatográfica dos isômeros externos foi diminuindo com o aumento do número de átomos de carbono na cadeia principal, chegando a ter uma coeluição dos isômeros 7 e $6\phi\text{-C}_{13}$ (picos 17 e 18). Essa coeluição entre os isômeros 7 e $6\phi\text{-C}_{13}$ utilizando 95% polidimetilsiloxano e 5% difenilsiloxano como fase estacionária também foi relatada em outros trabalhos descritos na literatura ⁸⁸.

4.1.2 Quantificação

A mistura industrial de LAB foi analisada conforme a metodologia descrita no item 3.3.1. O cromatograma com os picos correspondentes aos congêneres está apresentado na Figura 11. A determinação da mistura industrial de LAB baseado nos isômeros $1\phi\text{-C}_{11\sim 14}\text{AB}$, é apresentado na Tabela 10.

Figura 10 - Cromatograma de íon total (GC/MS-SCAN) dos 20 LAB na mistura industrial: (1)-5 ϕ -C₁₀; (2)- 4 ϕ -C₁₀; (3)-3 ϕ -C₁₀; (4)- 2 ϕ -C₁₀; (5)-6 ϕ -C₁₁; (6)- 5 ϕ -C₁₁; (7)-4 ϕ -C₁₁; (8)- 3 ϕ -C₁₁; (9)- 2 ϕ -C₁₁; (10)-6 ϕ -C₁₂; (11)- 5 ϕ -C₁₂; (12)-4 ϕ -C₁₂; (13)- 3 ϕ -C₁₂; (14)- 2 ϕ -C₁₂; (15,16)-7/6 ϕ -C₁₃; (17)-5 ϕ -C₁₃; (18)- 4 ϕ -C₁₃; (19)-3 ϕ -C₁₃; (20)-2 ϕ -C₁₃AB.

Verifica-se na Figura 10 que a mistura industrial de LAB apresenta homólogos de alquil benzeno linear com 10 a 13 átomos de carbono na cadeia principal. Estes homólogos são encontrados em amostras ambientais e detergentes de uso comum⁸⁶. Todos os isômeros possíveis estão presentes na mistura industrial (2,3,4,5,6,7- ϕ C_{10~14}AB), exceto os isômeros 1 ϕ -C_{10~14}AB. Com a disponibilidade de isômeros individuais (1 ϕ -C_{10~14}AB) de alquil benzeno linear de grau analítico foi possível quantificar os componentes da mistura industrial de LAB obedecendo ao número de átomos de carbono na cadeia principal.

Tabela 6 - Concentração de congêneres de LAB (mg.g^{-1}) encontrados na mistura industrial (quantificação baseada no isômero $1\phi\text{-C}_{10\sim 14}\text{AB}$) com $n=3$.

congênera	conc.*		S	congênera	conc.	S
$5\phi\text{-C}_{10}\text{AB}$	48	$\pm$	0,8	$6\phi\text{-C}_{12}\text{AB}$	71	$\pm$ 0,1
$4\phi\text{-C}_{10}\text{AB}$	35	$\pm$	0,6	$5\phi\text{-C}_{12}\text{AB}$	68	$\pm$ 0,1
$3\phi\text{-C}_{10}\text{AB}$	31	$\pm$	0,5	$4\phi\text{-C}_{12}\text{AB}$	48	$\pm$ 0,1
$2\phi\text{-C}_{10}\text{AB}$	31	$\pm$	0,5	$3\phi\text{-C}_{12}\text{AB}$	43	$\pm$ 0,1
$6\phi\text{-C}_{11}\text{AB}$	44	$\pm$	0,0	$2\phi\text{-C}_{12}\text{AB}$	41	$\pm$ 0,1
$5\phi\text{-C}_{11}\text{AB}$	85	$\pm$	0,1	$7/6\phi\text{-C}_{13}\text{AB}$	78	$\pm$ 0,3
$4\phi\text{-C}_{11}\text{AB}$	61	$\pm$	0,0	$5\phi\text{-C}_{13}\text{AB}$	49	$\pm$ 0,3
$3\phi\text{-C}_{11}\text{AB}$	55	$\pm$	0,0	$4\phi\text{-C}_{13}\text{AB}$	34	$\pm$ 0,3
$2\phi\text{-C}_{11}\text{AB}$	53	$\pm$	0,0	$3\phi\text{-C}_{13}\text{AB}$	26	$\pm$ 0,3
				$2\phi\text{-C}_{13}\text{AB}$	27	$\pm$ 0,3
LAB total 928						
mg.g^{-1}						

Verificar na Tabela 6 que a mistura industrial de LAB possui concentração de 928mg.g^{-1} de LAB total com a presença de homólogos de 10 a 13 átomos de carbono na cadeia principal. O homólogo majoritário é o $n\phi\text{-C}_{12}\text{AB}$ que apresenta maior concentração normalizada de (271 mg.g^{-1}) seguida pelos homólogos $n\phi\text{-C}_{11}\text{AB}$ (298 mg.g^{-1}), $n\phi\text{-C}_{13}\text{AB}$ (214 mg.g^{-1}) e $n\phi\text{-C}_{10}\text{AB}$ (145 mg.g^{-1}). Dentre os isômeros encontrados, os isômeros $5\phi\text{-C}_{11}\text{AB}$ apresentam maior concentração

(85 mg.g⁻¹), por outro lado o isômero 3 ϕ -C₁₃AB apresenta a menor concentração (26 mg.g⁻¹). Os valores de concentração para os isômeros de grupo 2 fenila são semelhantes aos reportados na literatura ($\cong$ 152 mg.g⁻¹)¹⁸. Esse resultado evidencia que o processo de obtenção do LAB deve ter sido empregado o HF, catalisador usado em 74% da produção mundial de LAB¹⁰. Além disso, as relações entre isômeros internos e externos mostram também que o HF foi o catalisador usado. Na literatura foram encontrados valores de I.I. = 490 mg.g⁻¹ e I.E. = 510 mg.g⁻¹, e no presente trabalho foi observado valores de I.I. = 485 mg.g⁻¹ e I.E. = 443 mg.g⁻¹.

4.2 Desenvolvimento de método por SPME-GC/MS

4.2.1 Avaliação pelo método univariado

4.2.1.1 Avaliação do modo e do tipo de fibra

Uma solução mistura padrão contendo LAB com: 7 μ g.mL⁻¹ LAB (1 ϕ -C_{10~14}AB) foi submetida a metodologia de micro extração em fase sólida em modo *headspace* e inserção direta (item 3.3.3.1) e logo após a análise cromatográfica com o GC/MS, no modo *scan* do (item 3.2.1), o resultado dessa extração está apresentado na figura 12. Os dois principais modos de extração utilizados compreendem *headspace* e inserção direta. A técnica *headspace* empregada para analitos geralmente volátil ou volatilizável que são transportados para o filme

polimérico¹³⁹. Esta técnica possui a principal vantagem de proteger a fibra de danos causados por interferentes de grande massa molecular e outros componentes não voláteis presentes na matriz ou de outras modificações que possam ser efetuadas na matriz sem danificar o filme¹⁴⁰. Na técnica de inserção direta a fibra é inserida diretamente na amostra utiliza-se o sistema sob agitação aumentando assim o contato do analito e a fibra. A técnica de inserção direta apresenta como desvantagem à exposição direta da fibra aos interferentes presentes na matriz. No estudo de SPME proposto para LAB como podemos verificar na Figura 12, o modo inserção direta apresenta maior eficiência de extração em relação ao *headspace*.

Figura 11 – Extração de alquil benzeno linear com diversas fibras de SPME para a solução mistura padrão LAB (1 ϕ -C_{10~14}AB) nos modos inserção direta e *headspace*.

A fibra apolar PDMS 30 μ m para o homólogo 1 ϕ -C₁₀AB apresenta área cerca de vinte vezes maior quando comparado ao modo *headspace*. Em ambos os modos de extração a fibra apolar PDMS apresenta melhores resultados para

quase todos os homólogos da mistura padrão. O LAB por apresentar hidrofobicidade alta ($\log_{\text{KOW}}$ 7,45 a 8,19)¹⁴¹ permite ser extraído mais rápido com o filme extrator com características apolar. O filme extrator apolar PDMS é um líquido polimérico que remove o analito pelo processo de partição, apresenta baixa sensibilidade aos efeitos da matriz e de grande sensibilidade aos analito¹⁰⁰. O PDMS tem mostrado ser eficiente também para outras classes de poluentes ambientais de características apolares como HPA e CB em diversas matrizes^{122,142}. Entre as fibras PDMS (100, 30, 7 μm) a que favoreceu o melhor resultado foi a fibra com 30 μm de recobrimento de filme, no modo inserção direta. Essa diferença na extração das fibras PDMS (100, 30, 7 μm) pode ser devido ao volume do filme extrator e o tempo necessário para atingir o equilíbrio entre as fases. A fibra menos espessa PDMS 7 μm atinge o equilíbrio mais rapidamente, porém tem sua sensibilidade mais limitada. Por outro lado a fibra mais espessa PDMS 100 μm extrai uma quantidade maior de analito, porém mais lentamente e o tempo de equilíbrio de 15 min pode ser insuficiente. Nesse caso a PDMS 30 μm com um volume de intermediário de filme necessita de tempo superior PDMS 7 μm e inferior a PDMS 100 μm para atingir o equilíbrio e o tempo de 15 min pode se suficiente.

A cinética de transporte dos homólogos 1 ϕ -C_{10~12}AB apresenta diferenças significativas em relação aos demais homólogos constituintes as mistura padrão. Nesse caso, o modo de extração *headspace* apresentou baixa eficiência de extração, devido ao equilíbrio das fases depender do coeficiente de partição do analito¹⁴³. Os resultados obtidos com a fibra bipolar CW/PDMS no modo de

extração *headspace* mostram um decréscimo no poder de extração, enquanto no modo de inserção direta apresentou um comportamento irregular com valores de área relativa menores para os homólogos e $1\phi\text{-C}_{10,11,14}\text{AB}$. O comportamento dessa fibra CW/PDMS pode ser resultante da competição do analito e a estrutura da fibra já que os dois adsorventes tem natureza de polaridades diferentes sofrem discriminação em função de sua massa molecular no processo de adsorção⁸⁹.

Baseando-se nos resultados concluiu-se que a fibra apolar PDMS com espessura de filme de 30 μm no modo extração por inserção direta apresentou os melhores resultados praticamente para todos os homólogos constituintes da mistura padrão.

4.2.1.2 Avaliação do tempo de extração

Na extração SPME o tempo de exposição ou tempo de extração utilizado representa pode ser admitido como o tempo prático necessário para que atinja o equilíbrio de modo reprodutível^{144,145}. Empregando o modo inserção com a fibra PDMS 30 μm com agitação magnética foram avaliados o tempo de extração e efeito *salting out*. Os resultados desse estudo estão apresentados na Figura 12. Nesse caso, a eficiência de extração foi maior entre 5 a 30 min, para a maioria dos homólogos da mistura padrão. Dentre os homólogos, os componentes ($1\phi\text{-C}_{12\sim 14}\text{AB}$) que apresentaram os melhores resultados com tempo de extração de 30 min.

A partir de 30 min de extração os homólogos presentes na mistura padrão apresentaram perfil ligeiramente decrescente para os homólogos $1\phi\text{-C}_{12\sim 14}\text{AB}$. No caso do $1\phi\text{-C}_{10}$ o tempo de extração a partir de 50 min não influenciou na eficiência da extração. O $1\phi\text{-C}_{11}\text{AB}$ obteve sua maior eficiência entre 30 a 50 min de extração.

Figura 12 Efeito do tempo de extração SPME para mistura padrão de LAB ($1\phi\text{-C}_{10\sim 14}\text{AB}$).

Examinando os resultados obtidos, escolheu-se o tempo de 30 min de extração, uma vez que o outro tempo de 50 min que também seria recomendado acarretaria em um comprometimento na extração.

4.2.1.3 Avaliação do efeito salino

A adição de sal provoca a mudança de solubilidade no meio aquoso acelerando a migração do analito para o adsorvente¹¹⁴. O efeito salino pode aumentar o poder de extração como ocorreu na determinação de alquil pirazinas presente em licor de cacau¹⁴⁶ ou também diminuir o poder de extração SPME como no caso da determinação de hidroxitolueno butilato (BHT) presente em água mineral¹⁴⁷.

Figura 13 - Efeito salino na extração SPME para mistura padrão de LAB ($1\phi\text{-C}_{10\sim 14}\text{AB}$).

Os resultados do estudo feito com adição de 0 a 15% de sulfato de sódio estão apresentados na Figura 14. Com o aumento da concentração salina se obteve um aumento de área dos picos sendo que o homólogo $1\phi\text{-C}_{14}\text{AB}$ apresentou um valor na ordem de 150% maior quando adicionado 15% do sal. Os homólogos de $1\phi\text{-C}_{10\sim 13}\text{AB}$ evidenciaram um perfil crescente entre 0 a 10% de adição de sal, exceto para o $1\phi\text{-C}_{14}\text{AB}$, atingindo um valor máximo na concentração de 10%. Por outro lado, apenas o $1\phi\text{-C}_{14}$ obteve o melhor poder de extração na concentração de 15% de sal. A partir da concentração de 10% de

sulfato de sódio, observa-se uma diminuição da eficiência da extração dos LAB ($1\phi\text{-C}_{10\sim 13}\text{AB}$) ao aumento da viscosidade do meio que dificulta sua transferência para fase extratora. A concentração salina alta na extração SPME deve ser evitada uma vez que pode contribuir negativamente para o aumento de interferentes absorvidos na fibra, bem como comprometer a sua vida útil. Assim, a concentração salina de 10% foi considerada a melhor condição.

4.2.1.4 Avaliação da temperatura

A temperatura afeta as propriedades físico-químicas como a solubilidade e o coeficiente de partição, parâmetros que afetam diretamente o processo de extração ou o processo de transferência de massa. Na Figura 15 observa-se que valores máximos de área são encontrados na temperatura de 35°C para os homólogos $1\phi\text{-C}_{11,13}\text{AB}$, o que representa uma eficiência de cinco vezes maior em relação a 25°C para o $1\phi\text{-C}_{13}\text{AB}$. O aumento da temperatura de 25 para 35°C refletiu em um aumento expressivo na área dos picos correspondentes a todos os homólogos, quatro vezes maior. Esse fato pode ser justificado pelo coeficiente de difusão do analito e o equilíbrio entre as fases ¹²¹. A partir da temperatura de 45 até 65°C as áreas foram mantidas praticamente iguais ou ligeiramente menores.

Figura 14 – Efeito da temperatura na extração SPME para a mistura padrão (1φ-C₁₀₋₁₄AB).

De 55 para 65°C, houve uma diminuição em área para os 1φ-C_{10,11,14}AB, que pode ser atribuída pelo aumento da solubilidade dos analitos que dificulta a extração do analito na fase extratora.

Através dos resultados obtidos, observa-se que na temperatura de 35°C houve um acréscimo significativo no poder de extração para quase todos os homólogos. Por essa razão, a temperatura de 35°C foi escolhida.

4.2.1.5 Escolha das condições ótimas

Após a avaliação dos parâmetros individuais que interferem no poder de extração SPME tais como modo, tipo de fibra, tempo e temperatura de extração e efeito salino foi estabelecida as melhores condições de extração: fibra PDMS 30 µm, modo de inserção direta, temperatura de 35°C, concentração salina de 10 % e tempo de exposição da fibra de 30 min.

4.2.2 Otimização pelo método multivariado

Os processos analíticos são dependentes de uma grande variedade de fatores tais como temperatura, pH, concentração, superfície de contato entre outros podendo envolver até 50 fatores, como ocorre na técnica cromatográfica. Os fatores e suas interações influenciam na performance analítica e precisam ser conhecidos no processo de otimização. O uso da técnica estatística multivariada para a otimização da extração SPME permite tornar o método mais eficiente e rápido^{148,149}. Isto se torna possível devido ao método multivariado permitir a determinação da influência de uma ou mais variáveis sobre uma outra variável¹⁵⁰, ou seja, na linguagem estatística, os efeitos dos fatores e suas interações que podem ser significativos no processo de extração SPME. O método multivariado permite ter como vantagens a melhor concordância entre os valores nominais e os valores pretendidos com redução no número de ensaios, conseqüentemente há redução do custo operacional e do tempo gasto para obter as condições ótimas do

método de extração. Em suma, o método multivariado permite maior eficiência e economia no processo experimental. Entre os métodos multivariados, o planejamento fatorial aplicado no desenvolvimento e na análise dos dados obtidos permite uma maior objetividade científica na interpretação dos resultados^{151, 152}. O planejamento fatorial é uma técnica bastante utilizada quando se tem duas ou mais variáveis independentes (fatores)¹⁵³. Ele permite uma combinação de todas as variáveis em todos os níveis, obtendo-se assim uma análise de uma variável, sujeita a todas as combinações. O planejamento fatorial de dois níveis permite também investigar determinados fatores que têm ou não influência sobre a resposta. O planejamento fatorial 2^4 com ponto central foi aplicado na otimização de extração de LAB onde foram selecionados os fatores espessura de filme, concentração salina, tempo e temperatura de extração. Para se estimar o erro experimental foi realizada a replicação, ou seja, a triplicata de ponto central de modo a garantir a distribuição equânime de todos os fatores não significativos obtendo-se assim a condição ótima de extração¹⁵⁴. A partir dos dados obtidos da extração SPME no modo multivariado foram analisados os efeitos principais para cada homólogo de LAB e também para a mistura dos homólogos.

4.2.2.1 Avaliação individual por homólogo de LAB

Os resultados das áreas da otimização SPME para extração de LAB com o planejamento 2^4 quadruplicata de ponto central estão indicados na Tabela 11. Verifica-se que entre os quatro fatores são avaliados dois: níveis: superior e inferior juntamente com o ponto médio (central) resultando em 20 ensaios de

extração SPME onde as áreas dos cinco homólogos variaram entre 11000 para 1 ϕ -C₁₄ AB a 200000 para 1 ϕ -C₁₀ AB sendo que os ensaios no ponto central apresentaram os maiores de áreas. Pode-se verificar que o planejamento possui variadas combinações de fatores e o uso da triplicata do ponto central auxilia a estimar o erro experimental dos ensaios. Para se avaliar a influência de um fator ou sua interação com outros fatores se faz necessário a aplicação dos cálculos dos efeitos e a curvatura descrita (Tabela 12).

Tabela 7- Matriz com o resultado das áreas da extração SPME para LAB utilizando o planejamento fatorial 2^4 com ponto central.

Ensaio	Fatores				Homólogo				
	1	2	3	4	1 ϕ -C ₁₀	1 ϕ -C ₁₁	1 ϕ -C ₁₂	1 ϕ -C ₁₃	1 ϕ -C ₁₄
1	-	-	-	-	51161 ^a	36272	39295	31533	31942
2	-	-	-	+	24201	21052	21556	21488	18162
3	-	-	+	-	116173	68413	66392	62418	66546
4	-	-	+	+	79655	76567	92704	91751	92436
5	-	+	-	-	34496	19666	16135	13167	11843
6	-	+	-	+	95817	87611	96955	89179	81024
7	-	+	+	-	121754	68929	65861	55902	66511
8	-	+	+	+	174517	161930	189753	184435	177822
9	+	-	-	-	54825	29832	31427	23876	26981
10	+	-	-	+	54480	46927	52218	48324	48590
11	+	-	+	-	107886	66948	69450	70769	72160
12	+	-	+	+	90572	81911	90472	96485	92447
13	+	+	-	-	123785	87935	87467	88812	82808
14	+	+	-	+	71979	60591	73777	77307	91885
15	+	+	+	-	202036	102457	89566	86835	92520
16	+	+	+	+	71979	60591	74506	77511	92274
17	0	0	0	0	128757	116119	118135	129123	112807
18	0	0	0	0	108627	129773	103385	117502	107515
19	0	0	0	0	154825	140832	131427	123876	126981

1 = espessura do filme extrator, 2 = tempo, 3 = temperatura e 4 = efeito salino

^a área

Tabela 8 – Valores de efeitos e curvatura para os homólogos de LAB obtidos através da extração SPME utilizando o planejamento fatorial 2^4 com ponto central.

Efeitos	Homólogo				
	1 ϕ -C ₁₀ AB	1 ϕ -C ₁₁ AB	1 ϕ -C ₁₂ AB	1 ϕ -C ₁₃ AB	1 ϕ -C ₁₄ AB
Curvatura	± 9456	± 13853	± 11592	± 16850	± 12955
1	12295,1	-406,0	-2471,0	2505,8	6672,4
2	42000,4	27723,5	28813,2	28313,0	30927,9
3	54404,4	37232,5	39984,3	41552,5	44935,1
4	-16290,4	14591,0	28293,5	31646,0	30416,1
1,2	3151,9	-6234,5	-8376,0	-5560,2	-1100,6
1,3	-17201,6	-15577,0	-20208,0	-18232,3	-20150,9
1,4	-28941,9	-23879,0	-25027,8	-24312,2	-17734,4
2,3	1999,6	-2706,5	-3646,3	-7498,0	-4543,4
2,4	3993,9	8343,0	15697,0	14283,0	16914,6
3,4	-16491,1	3972,0	10748,0	11918,5	8894,4
1,2,3	-9373,4	-11688,0	-14716,0	-16708,8	-15190,4
1,2,4	-40396,6	-33660,0	-33337,8	-32031,2	-25180,9
1,3,4	-11962,1	-8135,5	-11032,8	-11056,2	-11555,6
2,3,4	-9859,4	-1338,5	-322,5	1757,0	-692,6

1 = espessura de fibra, 2 = tempo, 3 = temperatura e 4 = efeito salino

Os valores da curvatura e dos efeitos foram obtidos dentro do intervalo de confiança de 95% com a determinação da estimativa de erro experimental para a extração de LAB. O efeito da temperatura (3) na extração SPME mostrou-se mais importante, ou seja, o efeito principal para cada homólogo da mistura, variando de

37 000 a 55 000. Esse efeito da temperatura também foi significativo para a somatória dos homólogos da mistura LAB ($1\phi\text{-C}_{10\sim 14}$ AB) conforme gráfico de Pareto apresentado na Figura 18. O efeito da temperatura também foi observado como efeito principal na determinação por SPME-GC/MS de fenóis voláteis presentes em vinhos aplicando otimização multivariada¹⁵⁴.

O tempo de extração empregando 50 min embora não seja significativo apresentou valor de aproximadamente 42000 para o homólogo $1\phi\text{-C}_{10}$ AB. O tempo de exposição de 50 min deve ser admitido no método de extração SPME uma vez pode ampliar a eficiência da extração, como acontece na determinação de HPAs e mais 11 contaminantes presentes amostras de rio por SPME, o qual tempo de extração é o efeito principal¹⁵⁵.

Pode-se verificar valores de correlação entre 0,75 a 0,99 para os cinco homólogos, sendo que os homólogos de $1\phi\text{-C}_{11}\text{AB}$ a $1\phi\text{-C}_{14}\text{AB}$ apresentaram valores de correlação maiores e $1\phi\text{-C}_{10}\text{AB}$ o menor valor (Tabela 13).

Os demais efeitos, espessura de filme e efeito salino, juntamente com as interações dos efeitos duplos ou triplos não se mostraram significativos no intervalo de confiança de 95%. Os valores de curvatura foram determinados para cada homólogo de LAB com valores entre + 770 a +1489 (modelo linear). A extração SPME por ser sujeita a inúmeras variáveis o modelo linear não provem de resultados lineares como mostra a dispersão dos resultados das áreas nos ensaios do planejamento fatorial (Tabela 13). Essa constatação pode ser verificada nos altos valores de áreas observadas nos ensaios no ponto central (Tabela 13). Assim, para que seja realizado um entendimento mais minucioso da

otimização multivariada foi utilizada a análise de componentes principais (PCA). A PCA é uma ferramenta quimiométrica que permite extrair, de um conjunto de dados, informações relevantes para a interpretação dos dados¹⁵⁶. Na PCA, a dimensão dos dados originais é diminuída para um menor conjunto de dimensões chamadas componentes principais (PC). Dessa forma é possível efetuar uma simplificação, modelamento, detecção das amostras anômalas (*outliers*), seleção de variáveis importantes em um determinado sistema, classificação e previsão.¹⁵⁷ Um exemplo interessante de aplicação da PCA é o estudo para diagnosticar as possíveis fontes de HAPs e hidrocarbonetos alifáticos na poluição atmosférica¹⁵⁸. Na literatura são reportados estudos usando análise multivariada para a extração SPME. Os resultados desses estudos têm sido usados para caracterização de vinhos,¹⁵⁹ distinção e avaliação da qualidade de óleos vegetais,¹⁶⁰ avaliação de tipos e procedências de café¹⁶¹ e caracterização de VOCs para estabelecer fontes de origem através de marcadores de lixo (limoneno) e chorume e biogás (p-cumeno)¹⁶².

Podemos verificar na Figura 17 o resultado do PCA aplicado na avaliação planejando fatorial da extração SPME para LAB.

Tabela 9 – Correlação entre os homólogos de LAB para a extração SPME.

homólogo	1 ϕ -C ₁₀ AB	1 ϕ -C ₁₁ AB	1 ϕ -C ₁₂ AB	1 ϕ -C ₁₃ AB	1 ϕ -C ₁₄ AB
1 ϕ -C ₁₀ AB	1,00	0,84	0,78	0,75	0,78
1 ϕ -C ₁₁ AB	0,84	1,00	0,96	0,96	0,94
1 ϕ -C ₁₂ AB	0,78	0,96	1,00	0,99	0,98
1 ϕ -C ₁₃ AB	0,75	0,96	0,99	1,00	0,98
1 ϕ -C ₁₄ AB	0,75	0,94	0,98	0,98	1,00

Verifica-se na Figura 16 a variância total foi de 98,5%, onde o componente principal 1 (PC1) explica 91% dos dados. Esse resultado pode estar relacionado com a dispersão de área dos homólogos de LAB em cada ensaio no planejamento fatorial (Tabela 8). A replicata dos ensaios com ponto central (0000) em destaque representam a média dos níveis dos fatores do planejamento, evidenciando comportamento diferenciado dos demais ensaios. O ponto central apresenta valor negativo de PC1, representando as áreas maiores (Tabela 11) e conseqüentemente a maior eficiência de extração dos homólogos de LAB. Esse comportamento não linear dos ensaios pode ser atribuído as fibras utilizadas. As fibras usadas no planejamento fatorial utilizam o mesmo sorvente polidimetilsiloxano com espessuras (100, 30 e 7 μ m) e estrutura polimérica diferentes.

Figura 15 – Projeção dos escores na otimização da extração SPME no modo multivariado para a mistura padrão de LAB (1 ϕ -C_{10~14}AB). Os sinais representam o nível do fator no planejamento fatorial (Tabela 8).

Os ensaios com ponto central utilizando a fibra PDMS 30 μ m possuem correlação com os valores negativos de PC1, onde se obteve a maior eficiência de extração. Os ensaios que foram empregados a temperatura menor ensaios +---+, ---, +---, -+---, ----+ em destaque com um círculo (conjunto xx-x) apresentaram os menores valores de áreas conseqüentemente a menor eficiência de extração, evidenciando a temperatura como o efeito principal na otimização. Por outro lado

quando foi utilizado tempo e/ou temperatura mais alta na de extração observou-se alta eficiência na extração (-+++,+++-,++--,-++-,+--,-++-,++++). O efeito salino, seja no nível superior (xxx+) ou nível inferior (xxx-), mostrou ter maior influência no poder de extração que a o nível inferior de temperatura (xx-x). O nível superior da concentração salina (xxx+) mostrou ter efeito semelhante ao nível superior de temperatura (xx+x). Esse comportamento diferente dos grupos pode ser confirmado no dendograma da análise de *cluster* (Figura 16). Nessa análise de *cluster* tem-se a presença de três grupos. Na parte superior tem-se o grupo dos ensaios o qual utilizou o valor inferior da temperatura (xx-x), ao centro têm-se principalmente os ensaios com valor superior de temperatura (xx+x) e abaixo os ensaios com ponto central (0000). Dentro do grupo dos ensaios com ponto central que apresentam grande eficiência de extração, destacam-se dois ensaios que apresentam tempo e temperatura no valor superior (+++-, -+++).

Para estabelecer as condições ótimas de extração utilizando o método multivariado fez-se uma combinação do terceiro grupo do dendograma da análise de *cluster*. Este terceiro grupo é composto de ensaios com ponto central e níveis superiores de tempo e temperatura de extração. Nesse método foi selecionados a espessura de fibra (30 μ m) e concentração salina (5%) utilizada nos ensaios com ponto central (0xx0). O efeito principal temperatura (50°C) e tempo de extração (50 min) com valores superiores também foram selecionados (x++x). Assim o método multivariado sugerido foi composto de espessura de filme de 30 μ m, 50 min de exposição de fibra a 50°C na concentração de 5% de sal (0++0). O tempo de extração proposto por esse método multivariado (50 min) também foi sugerido

na determinação de hidrocarbonetos presentes em solo por SPME no modo inserção direta com valores de desvio padrão relativo de 10%¹⁶³.

Figura 16 - Dendrograma de *cluster* na otimização da extração SPME no modo multivariado para a mistura de LAB (1φ-C_{10~14}AB). Os sinais representam o nível do fator no planejamento fatorial (Tabela 8).

4.2.2.2 Avaliação por somatória de homólogos de LAB

Para avaliar os resultados obtidos a partir dos ensaios de otimização de extração SPME com o método multivariado para a somatória dos LAB (1 ϕ -C_{10~14}AB) foi utilizado a análise de variância (ANOVA) que permite aceitar ou rejeitar estatisticamente as hipóteses investigadas nos ensaios. O objetivo dessa técnica é analisar a variação média dos resultados dos ensaios e demonstrar quais os fatores que realmente produzem efeitos (principais e interação) significativos em um sistema¹⁶⁴. Pode-se verificar no gráfico de Pareto (Figura 17) a partir dos dados de análises de variância (ANOVA) no modelo adotado que a temperatura de extração é o efeito principal para aumentar a eficiência de extração SPME. Neste gráfico, o comprimento das barras é proporcional ao valor absoluto das estimativas dos efeitos. A linha vertical pontilhada ($p=0,05$) corresponde ao intervalo de confiança de 95%. Assim, a barra correspondente a variável que ultrapassa a linha pontilhada pode ser considerada com o efeito, significativo enquanto as outras barras que não ultrapassam a linha pontilhada não são consideradas como efeito significativo. Esse procedimento de otimização utilizando o planejamento fatorial com ponto central também foi aplicado na otimização de extração SPME por *headspace* para determinação de éter metil terbutílico em águas contaminadas¹⁶⁵ com LQ de 1 $\mu\text{g.L}^{-1}$.

Figura 17 - Gráfico de Pareto para os efeitos de interação na otimização da extração SPME para somatória de LAB (1φ-C_{10~14}AB).

4.2.3 Método univariado *versus* método multivariado

Uma comparação da performance analítica foi realizada com os métodos de extração SPME para LAB obtido a partir da otimização nos modos univariado e multivariado. Ambos métodos foram aplicados em quintuplicada para mistura de LAB (1φ-C_{10~13}AB) com conc. de 2,5 µg mL⁻¹. Esses dados foram compilados e tratados estatisticamente (Tabela 10).

Tabela 10 - Comparação entre os modos univariado e multivariado de otimização para extração SPME de LAB (n =5).

	1 ϕ -C ₁₀ AB		1 ϕ -C ₁₁ AB		1 ϕ -C ₁₂ AB		1 ϕ -C ₁₃ AB	
	U	M	U	M	U	M	U	M
	8,30*	6,20	7,20	6,50	7,30	5,80	7,90	8,20
	7,10	6,90	6,40	6,90	6,80	5,80	7,30	8,20
	7,10	7,50	6,00	7,20	6,40	6,90	6,91	5,90
	7,00	6,90	6,20	5,40	6,80	6,40	6,90	7,00
	6,50	7,00	6,50	7,00	5,50	5,80	6,31	6,70
Er. P.	2,97	2,74	3,71	3,24	3,01	2,20	2,64	4,11
S	6,63	6,13	8,29	7,24	6,73	4,92	5,89	9,18
F = 1,060125 F _c = 2,3127738 α = 0,05								

* x10⁷

U- univariado, M- multivariado, Er. P.- erro padrão, S - desvio padrão

Quando se compara estatisticamente os resultados das otimizações utilizando os métodos univariado e multivariado dentro do intervalo de confiança de 95% ANOVA concluem se que os ambos métodos são equivalentes. Essa conclusão é atribuída a *hipótese nula*, onde os métodos propostos apresentam a variância, ou seja o valor de F encontrado é menor que F tabelado ($F = 1,060125 < F_c = 2,3127738$)^{106,166} (Tabela 10). Por outro lado, ambos os métodos de otimização apresentam máximo valores de área semelhantes principalmente para os homólogos 1- ϕ C₁₀AB e 1- ϕ C₁₁AB. O maior valor de área foi apresentado

principalmente ao método multivariado em relação ao univariado para todos os homólogos estudados. Essa diferença entre a amplitude para cada homólogo evidencia a maior dispersão de resultados para o método univariado como pode ser observado nos valores de erro e desvio padrão. Os resultados da extração SPME também apresentaram valores próximos a 10% de desvio padrão em compostos orgânicos voláteis em água¹⁶⁷ e em cúrcuma¹⁶⁸. Vale enfatizar aqui que o processo de otimização gera uma quantidade significativa de resultados decorrentes das variáveis envolvidas e o modo univariado dificulta a avaliação dos efeitos de interação¹⁶⁹. Assim o método de extração SPME empregando o modo multivariado por apresentar uma dispersão menor foi selecionado, embora o modo univariado seja equivalente.

4.2.4 Influência do tempo de *splitless*

O instrumento SPME proporciona não somente a extração do analito, mas também desempenha o papel de introdução da amostra na coluna do cromatográfico¹⁷⁰. Assim depois do processo de extração SPME o adsorvente necessita “liberar” ou dessorver o analito para que seja analisado. Esse processo de dessorção para o cromatógrafo ocorre no *linner* dentro do injetor sob efeito de temperatura por um determinado período (tempo de *splitless*). Para manter baixos valores de sinal de fundo, ou seja, *background* após a introdução da amostra utilizasse o injetor com a válvula abertura (*split*) como artifício de “limpeza”. Sabe-se que a introdução da amostra é uma etapa fundamental em cromatografia a gás, pois pode afetar os resultados de modo qualitativo e quantitativo^{171,172,173}. Para

minimizar esse efeito foi feito um estudo variando o tempo de *splitless* de 1 a 5 min e uma temperatura do injetor de 250°C (Figura 18).

Figura 18 - Efeito do tempo de *splitless* na extração SPME de LAB entre 1 a 5 min.

Observa-se na Figura 18 que empregando tempo de *splitless* de 1 a 2 min na injeção SPME houve aumento expressivo no sinal resposta (área) para os homólogos de LAB (aproximadamente 9 vezes para 1f-C₁₀AB). Valores maiores de tempo de *splitless* (3 min) as áreas dos picos praticamente permaneceram iguais e acima de 3 min as áreas diminuíram. A válvula fechada por um tempo

relativamente grande permite a entrada de impurezas na coluna cromatográfica causando em aumento do sinal *background* e diminui a detectabilidade analítica. Nesse contexto, o tempo de *splitless* de 2 min foi escolhido para o método proposto.

4.3 Parâmetros de Validação

4.3.1 Análise de interferentes (“brancos”)

4.3.1.1 Análise da fibra

Possíveis interferentes podem estar presentes na fibra de extração. Tais interferentes podem causar problemas na identificação e quantificação para a análise. Na Figura 20 é apresentado seu cromatograma por GC/MS no modo *scan* após o condicionamento da fibra. Observa-se na uma pequena variação da linha base decorrente de possíveis fatores tais estabilidade do equipamento, sangramento da fase estacionária e programação de temperatura. A análise do branco da fibra de PDMS indica a presença de dois picos de baixa intensidade com valores próximos a relação sinal/ruído (R/S), A = 5 e B = 7.

Figura 19- Cromatograma por GC/MS no modo *Scan* e os espectros de massa correspondentes aos interferentes: A e B. Avaliação do branco de fibra (PDMS 30 μ m).

O tempo de retenção 7,3 min do contaminante A com o íon principal 149 m/z e o B com 8,8 min e íons principais 55, 99 e 173 m/z. Estes dois interferentes foram classificados como ftalato (A) e ácido carboxílico (B). O ftalato é um interferente comum em análise por GC/MS, pois, é utilizado como matéria prima de inúmeros polímeros entre eles o septo dos frascos utilizados nos experimentos. A fibra e o suporte metálico da SPME estão unidos através de um adesivo que provavelmente é constituído de ftalatos. O ácido carboxílico pode ser decorrente a extrações anteriores onde se utilizou a fibra em água deionizada. Os compostos

orgânicos como os ácidos carboxílicos podem estar presentes na água deionizada, apesar do processo de purificação. O processo de condicionamento da fibra emprega tempo e temperatura de exposição muitas vezes insuficientes para dessorver completamente os interferentes. Por outro lado, o condicionamento drástico (tempo e temperatura maiores) pode comprometer definitivamente a fibra e conseqüentemente o processo de extração. Os dois interferentes aparecem na região analítica dos homólogos de LAB, mas podem ter seu efeito minimizado com o artifício na quantificação por GC/MS através do monitoramento dos íons seletivos dos LAB (*SIM* modo de detecção).

4.3.1.2 Avaliação da água deionizada

A fibra PDMS 30 μ m foi submetida às condições otimizadas do método empregando apenas água deionizada. O cromatograma por GC/MS no modo *Scan* e seus espectros de massa estão apresentados na Figura 21.

Observa-se no cromatograma vários picos com intensidades variáveis (A, B, C e D). O pico A com tempo de retenção 2,7 min. se situa fora da região analítica dos LAB e apresenta fragmentos abaixo de 100 m/z os quais não apresentam similaridade com os analitos propostos. O pico B, C e D com tempos de retenção 10,9; 14,8 e 14,9 min estão situados na região analítica dos LAB, mas possuem características espectrais diferenciadas dos LAB. O pico B apresenta fragmentos abaixo de 100 m/z e relação sinal/ruído (R/S) igual a cinco, ou seja, próximo ao LD. O pico C um valor maior R/S (15), entretanto o íon principal é 149

m/z que tem similaridade com os ftalatos. O pico D possui R/S = 3, próximo ao LD. Na análise quantitativa por GC/MS no modo *SIM* os interferentes B,C e D não afetam a determinação analítica.

Figura 20 - Cromatograma por GC/MS no modo *Scan* e os espectros de massa correspondentes aos interferentes: A, B, C e D. Avaliação do branco de método.

4.3.2 Linearidade, LD, LQ e CV

Na Tabela 11 estão listados os parâmetros obtidos pela curva analítica feita a partir da análise SPME-GC/MS no modo *scan*. Neste trabalho foi aplicada a regressão linear para a obtenção da curva analítica dos analitos. No modo *scan* a resposta do detector foi linear para todos os homólogos ($r = 0,9863$ a $0,9928$) em concentrações de 0,5; 1,0; 3,0; 15,0; 25 e 35 $\mu\text{g mL}^{-1}$, análises feitas em triplicata. A precisão do método ou o coeficiente de variação (CV) dos homólogos de LAB foi de 6 a 15% ($n = 6$) para concentração de 0,5 $\mu\text{g mL}^{-1}$. O LD do equipamento para os analitos foi calculado com base na relação sinal/ruído^{174,175} de 3:1 obtendo valores de 0,1 a 0,2 $\mu\text{g L}^{-1}$ e o LQ na relação sinal/ ruído de 10:1 com valores de 0,1 a 0,4 $\mu\text{g L}^{-1}$.

Tabela 11 - Dados da curva analítica na extração SPME para LAB.

analito	R	CV (%)	LD $\mu\text{g mL}^{-1}$	LQ $\mu\text{g mL}^{-1}$
1 ϕ -C ₁₀ AB	0,9868	6	0,1	0,2
1 ϕ -C ₁₁ AB	0,9863	7	0,2	0,4
1 ϕ -C ₁₂ AB	0,9974	10	0,1	0,1
1 ϕ -C ₁₃ AB	0,9899	12	0,2	0,4
1 ϕ -C ₁₄ AB	0,9928	15	0,1	0,3

4.3.3 Avaliação da eficiência da extração

Para avaliar o efeito da matriz foi feito um estudo de recuperação do método analítico (Tabela 12).

Tabela 12 - Recuperação (%) obtida para os homólogos de LAB em amostra de detergente líquido (n = 3) .

Fortificação	Recuperação % (CV)		
	1 ng.mL ⁻¹	3 ng.mL ⁻¹	15 ng.mL ⁻¹
1 ϕ -C ₁₀ AB	135,0 (5)	60,9 (7)	67,8 (26)
1 ϕ -C ₁₁ AB	120,0 (0)	52,4 (10)	64,9 (34)
1 ϕ -C ₁₂ AB	95,0 (7)	48,0 (15)	75,8 (32)
1 ϕ -C ₁₃ AB	95,0 (7)	47,1 (23)	55,8 (14)
1 ϕ -C ₁₄ AB	110,0 (13)	52,4 (27)	64,2 (9)

Na Tabela 12 pode-se observar os valores de recuperação em diferentes concentrações de LAB (fortificações) empregando o método proposto (item 4.3.1.5). Os valores de recuperação (n = 3) variaram de 47 % para 1 ϕ -C₁₃ AB e 135 % para 1 ϕ -C₁₀ AB que podem ser considerados valores satisfatórios para recuperação de analitos em baixa concentração sob influência da matriz. Os valores de recuperação obtidos são similares a alguns estudos reportados na

literatura. Por exemplo, valores de recuperação de 47 a 120 % foram encontrados para poluentes inorgânicos¹⁷⁶ em material particulado atmosférico e 51 a 104% para PCBs, HPAs e pesticidas em águas¹⁷⁷. É interessante salientar um estudo feito para determinação de HPAs em águas de rios, onde a presença de detergentes aniônicos interferiram no processo de extração, resultando em uma grande dispersão dos valores de recuperação (criseno 81 a 203%)¹⁷⁸. Em outros estudos utilizando extração SPME foram alcançados valores de recuperação de 79 a 94% para PCBs presentes em água e sedimentos e 50 a 125% para HPAs em material particulado.¹²⁷

Fatores como efeito da matriz¹⁷⁹, adsorção do analito no frasco de vidro e na barra magnética¹⁸⁰ podem prejudicar a reprodutibilidade das análises e diminuir a eficiência da recuperação na extração SPME¹⁸¹.

4.4 Aplicação do método proposto

O método desenvolvido foi aplicado em amostra de LAS industrial e detergentes líquido e em pó (Tabela 13). Através dos resultados, é possível observar que todas as amostras estudadas foram encontradas os congêneres de LAB ($n\phi$ -C_{10~13}AB), exceto as amostras 9 a 11 de detergentes líquidos. As concentração de LAB totais nos detergentes variaram de 0,97 a 3,67 mg.g⁻¹, sendo que para detergentes em pó a concentração variou de 2,93 a 3,67 mg.g⁻¹ e para detergente líquido variou de 0,978 a 1,22 mg.g⁻¹ de LAB totais. Como seria esperado, na amostra de LAS industrial foi encontrado a maior concentração de

LAB totais (24,449 apresentou a maior concentração de LAB totais (mg.g^{-1}), o que representa cerca de 2,5% (m/m) de produto não sulfonado ficando próximo as especificações técnicas do produto (1 a 2%).

Tabela 13 – Média da concentração (mg.g^{-1}) de LAB encontrado em amostras de LAS e detergentes ($n = 3$).

congêneres	amostras								
	LAS	detergente pó				detergente líquido			
	1	2	3	4	5	6	7	8	9,10,11*
5 ϕ -C ₁₀ AB	0,93 $\pm$ 0,05	0,14 $\pm$ 0,02	0,13 $\pm$ 0,01	0,11 $\pm$ 0,01	0,05 $\pm$ 0,01	0,04 $\pm$ 0,01	0,04 $\pm$ 0,01	0,04 $\pm$ 0,01	nd
4 ϕ -C ₁₀ AB	0,68 $\pm$ 0,07	0,10 $\pm$ 0,02	0,10 $\pm$ 0,01	0,08 $\pm$ 0,02	0,03 $\pm$ 0,01	0,03 $\pm$ 0,01	0,03 $\pm$ 0,01	0,03 $\pm$ 0,01	nd
3 ϕ -C ₁₀ AB	0,61 $\pm$ 0,02	0,09 $\pm$ 0,01	0,09 $\pm$ 0,01	0,07 $\pm$ 0,01	0,03 $\pm$ 0,01	0,03 $\pm$ 0,01	0,02 $\pm$ 0,01	0,03 $\pm$ 0,01	nd
2 ϕ -C ₁₀ AB	0,61 $\pm$ 0,03	0,09 $\pm$ 0,01	0,05 $\pm$ 0,01	0,07 $\pm$ 0,01	0,03 $\pm$ 0,01	0,03 $\pm$ 0,01	0,02 $\pm$ 0,01	0,03 $\pm$ 0,01	nd
6 ϕ -C ₁₁ AB	1,08 $\pm$ 0,16	0,16 $\pm$ 0,02	0,19 $\pm$ 0,02	0,13 $\pm$ 0,03	0,05 $\pm$ 0,01	0,05 $\pm$ 0,01	0,04 $\pm$ 0,01	0,05 $\pm$ 0,01	nd
5 ϕ -C ₁₁ AB	2,10 $\pm$ 0,32	0,32 $\pm$ 0,03	0,30 $\pm$ 0,03	0,25 $\pm$ 0,05	0,11 $\pm$ 0,02	0,10 $\pm$ 0,03	0,08 $\pm$ 0,03	0,10 $\pm$ 0,01	nd
4 ϕ -C ₁₁ AB	1,52 $\pm$ 0,08	0,23 $\pm$ 0,02	0,21 $\pm$ 0,02	0,18 $\pm$ 0,04	0,08 $\pm$ 0,01	0,07 $\pm$ 0,02	0,06 $\pm$ 0,02	0,10 $\pm$ 0,01	nd
3 ϕ -C ₁₁ AB	1,37 $\pm$ 0,21	0,21 $\pm$ 0,02	0,19 $\pm$ 0,02	0,17 $\pm$ 0,03	0,07 $\pm$ 0,01	0,07 $\pm$ 0,02	0,06 $\pm$ 0,02	0,07 $\pm$ 0,01	nd
2 ϕ -C ₁₁ AB	1,32 $\pm$ 0,20	0,20 $\pm$ 0,02	0,19 $\pm$ 0,02	0,16 $\pm$ 0,03	0,07 $\pm$ 0,01	0,06 $\pm$ 0,02	0,05 $\pm$ 0,02	0,07 $\pm$ 0,01	nd
6 ϕ -C ₁₂ AB	2,08 $\pm$ 0,10	0,31 $\pm$ 0,01	0,30 $\pm$ 0,01	0,25 $\pm$ 0,05	0,10 $\pm$ 0,02	0,10 $\pm$ 0,03	0,08 $\pm$ 0,03	0,10 $\pm$ 0,01	nd
5 ϕ -C ₁₂ AB	2,00 $\pm$ 0,06	0,30 $\pm$ 0,03	0,28 $\pm$ 0,01	0,24 $\pm$ 0,05	0,10 $\pm$ 0,01	0,10 $\pm$ 0,03	0,08 $\pm$ 0,03	0,10 $\pm$ 0,03	nd
4 ϕ -C ₁₂ AB	1,41 $\pm$ 0,04	0,21 $\pm$ 0,02	0,20 $\pm$ 0,01	0,17 $\pm$ 0,05	0,07 $\pm$ 0,01	0,07 $\pm$ 0,02	0,06 $\pm$ 0,02	0,07 $\pm$ 0,03	nd
3 ϕ -C ₁₂ AB	1,27 $\pm$ 0,04	0,19 $\pm$ 0,02	0,18 $\pm$ 0,01	0,15 $\pm$ 0,05	0,06 $\pm$ 0,01	0,06 $\pm$ 0,02	0,05 $\pm$ 0,02	0,07 $\pm$ 0,02	nd
2 ϕ -C ₁₂ AB	1,20 $\pm$ 0,06	0,18 $\pm$ 0,03	0,17 $\pm$ 0,01	0,14 $\pm$ 0,04	0,06 $\pm$ 0,01	0,06 $\pm$ 0,02	0,05 $\pm$ 0,02	0,06 $\pm$ 0,02	nd
7/6 ϕ -C ₁₃ AB	2,28 $\pm$ 0,11	0,34 $\pm$ 0,05	0,32 $\pm$ 0,01	0,27 $\pm$ 0,08	0,11 $\pm$ 0,02	0,11 $\pm$ 0,03	0,09 $\pm$ 0,03	0,12 $\pm$ 0,04	nd
5 ϕ -C ₁₃ AB	1,44 $\pm$ 0,07	0,22 $\pm$ 0,03	0,20 $\pm$ 0,01	0,17 $\pm$ 0,03	0,07 $\pm$ 0,01	0,07 $\pm$ 0,02	0,06 $\pm$ 0,02	0,07 $\pm$ 0,02	nd
4 ϕ -C ₁₃ AB	1,00 $\pm$ 0,10	0,15 $\pm$ 0,03	0,14 $\pm$ 0,03	0,12 $\pm$ 0,02	0,05 $\pm$ 0,01	0,05 $\pm$ 0,01	0,04 $\pm$ 0,01	0,05 $\pm$ 0,02	nd
3 ϕ -C ₁₃ AB	0,76 $\pm$ 0,08	0,11 $\pm$ 0,03	0,11 $\pm$ 0,02	0,09 $\pm$ 0,01	0,04 $\pm$ 0,01	0,04 $\pm$ 0,01	0,03 $\pm$ 0,01	0,04 $\pm$ 0,01	nd
2 ϕ -C ₁₃ AB	0,81 $\pm$ 0,08	0,12 $\pm$ 0,02	0,11 $\pm$ 0,02	0,10 $\pm$ 0,01	0,04 $\pm$ 0,10	0,04 $\pm$ 0,01	0,03 $\pm$ 0,01	0,04 $\pm$ 0,01	nd
LABs totais	24,47	3,67	3,46	2,92	1,22	1,18	0,97	1,20	nd

As faixas de concentração diferentes entre os detergentes: pó e líquidos caracterizam o nível de LAS presente nos dois tipos de detergentes, de acordo com a regulamentação federal da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA)¹⁸². As amostras de detergente em pó (2 e 3) de procedências distintas apresentam concentração próximas de LAB (3,67 e 3,42mg.g⁻¹) sugerindo que os produtos apresentam características de detergencia semelhantes. Para as amostras de detergentes líquido (7 e 8) que possuem procedência iguais e lotes diferentes a concentração de LAB totais foi de 0,98 mg.g⁻¹ para a amostra 7 e 1,17 mg.g⁻¹ para amostra 8. As amostras detergentes líquido (5, 6 e 8) apresentaram concentrações similares, o que pode ser um indicativo que nas suas formulações as concentrações de LAS são semelhantes. As amostras de detergente líquido (9, 10 e 11) não foram detectados os LAB, ou os níveis de LAB estão abaixo do LD. Essas três amostras também foram analisadas por no GC/MS no modo *Scan* e os íons fragmentados seletivos (91, 92 e 105m/z) não foram detectados. Como nessas amostras não foram detectados os LAB, provavelmente o tensoativo LAS não está presente na formulação desses detergentes. Duas das três amostras de detergente líquido, onde não foi detectado LAB foram também avaliadas por um instituto de defesa do consumidor tendo apresentado resultado insatisfatório¹⁸³. O LAS é um dos principais componentes do detergente tendo uma grande participação no custo do produto. Se a concentração do LAS é diminuída tem-se redução no custo do produto que pode ser extrapolado custo final do produto. Isso compromete o poder de limpeza do detergente e caracterizando uma adulteração do produto. Assim, as amostras 9,10 e 11 não

atendem a regulamentação oficial da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA).

Na análise de LAB nas amostras (LAS industriale detergentes) foram encontrados congêneres que estão presentes na amostra industrial de LAB (item 4.1.1). Outra semelhança vem a ser que o congênere 7/6 ϕ -C₁₃AB apresenta as maiores concentrações (0,091 a 2,281mg.g⁻¹) e o 2 ϕ -C₁₀AB as menores (0,024 a 0,611 mg.g⁻¹) nas amostras estudadas. Esses dois congêneres (7/6 ϕ -C₁₃AB e 2 ϕ -C₁₀AB) também apresentam está proporção na mistura industrial de LAB. Essas similaridades entre as estudadas e a mistura industrial de LAB pode ser atribuído ao fato que há somente um fabricante de LAB, conseqüentemente seu produto tem grande participação no mercado.

4.4.1 Classificação de detergentes comerciais

Para melhor interpretar os resultados das análise de LAB nas amostras de LAS, detergentes líquido e pó foi aplicado análise de componentes principais para as variáveis concentração e isômeros (Figura 21).

Pode-se verificar na Figura 21 a projeção bidimensional no espaço de dois componentes principais, PC1 e o PC2, respectivamente. O PCA explica de 64,2% da variância total dos dados distribuídos em PC1 (84,6%) e PC2 (9,6%). O PC1 apresenta uma boa correlação com concentração dos isômeros encontrados (*loadind*: -0,77039 a -0,98044), enquanto o PC2 apresenta correlação com os isômeros de 2 ϕ -C₁₁AB a 2 ϕ -C₁₃AB (*loadind*: -0,086563 a -0,312706). Dentre os

dois componentes principais (PC1 e PC2) verifica-se que no PC1 a presença de três conjuntos distintos (A, B e C).

Figura 21 - Projeção dos escores obtidos a partir nas análises de LAB nas amostras de LAS, detergentes líquido e pó. **Detergente líquido:** 5a, 5b; 6a, 6b, 7a, 7b; 8a, 8b; 9; 10; 11. **Detergente em pó:** 2a, 2b, 2c; 3a, 3b; 4a, 4b. **LAS:** 1a, 1b.

A disposição desses conjuntos está correlacionada com as concentrações de cada congêner presente na amostra. Os valores de escores são inversamente

proporcionais a concentrações dos LAB. Nesse sentido, o conjunto A que representa as amostras de detergente em líquido tem valores negativos de PC1 e positivos de PC2, o conjunto B que representa as amostras de detergente em pó e LAS tem valores negativos de PC1 e PC2. A distinção dos dois tipos de detergentes líquidos e pó é evidenciada através das concentrações de LAB (Tabela 17). Por outro lado, o conjunto C representa amostras de detergentes líquido onde não foram detectados LAB dentro do limite de detecção do método. A ausência de LAB em determinadas amostras de detergentes líquidos (conjunto C) mostra que tais amostras que podem não possuir o tensoativo LAS na sua formulação.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

5.1 Conclusões do trabalho

O método proposto para determinação de LAB em detergentes comerciais empregando GC/MS ao SPME fornece algumas vantagens em relação ao método descrito na literatura. Trata-se de um método com tempo de análise menor (~90 min), no qual não é necessário o uso de solventes orgânicos. Além disso, permite uma boa sensibilidade ($LD = 0,1$ a $0,2$ e $LQ = 0,1$ a $0,4 \mu\text{g.mL}^{-1}$) e recuperação satisfatória (47 a 135%).

Estudos para otimização do método conduziram a um critério de escolha para as condições de extração. Métodos univariado e multivariado foram comparados sendo que a otimização pelo método multivariado foi a mais adequada. As condições ótimas são: fibra PDMS 30 μm no modo inserção direta, 50 min, 50°C , 5% sal e 2 min de tempo de *splitless*.

O método proposto foi aplicado em amostras de detergentes comerciais e as concentrações de LAB foram determinadas. PCA aplicada aos resultados permitiu a distinção de três tipos de produtos comerciais: detergentes em pó, detergentes líquidos e detergente adulterado. Os detergentes em pó apresentaram as maiores concentrações de LAB totais (2,92 a $3,67 \text{ mg.g}^{-1}$), enquanto os detergentes líquido apresentaram menores concentração de LAB totais (0,97 a $1,22 \text{ mg.g}^{-1}$). Dentre as amostras de detergentes líquidos, três delas não foram encontradas LAB ($<LD$), considerados os detergentes adulterados. O perfil dos isômeros e homólogos de

LAB encontrados nas amostras estudadas foi semelhante ao perfil da mistura industrial de LAB (19 congêneres).

5.2 Sugestões para trabalhos futuros

Dada a relevância do assunto, investigações futuras devem ser direcionadas para resolver questões relativas às áreas de saúde pública, meio ambiente e química analítica. Nesse sentido, devem ser estudadas as possíveis fontes desses contaminantes, relacionando o tipo de tensoativo e a sua degradação no meio ambiente, assim como devem ser desenvolvidos melhores métodos analíticos para a determinação dos mesmos. São importantes novas formulações de detergentes que proporcionam menor impacto no meio ambiente, além de estações de tratamento de efluentes industriais e esgoto doméstico com maior capacidade e melhor qualidade. Por final, os esforços devem ainda ser dirigidos para que seja possível estabelecer métodos de controle mais eficientes e definir valores limites para determinados componentes dos detergentes.

Seria interessante implementar o método analítico proposto para determinação de LAB como marcador de efluente doméstico em amostras de água proveniente de recursos hídricos e um estudo sistemático pode levar ao conhecimento do consumo de detergentes, nível de impactação e a biodegradabilidade dos LAB. Em um futuro análises de rotina de LAB devem ser realizadas como parâmetro de controle para estabelecer uma legislação oficial.

Com relação ao método analítico recomenda-se que seja avaliada a viabilidade da extração por adsorção em barra magnética (*Stir Bar Sorptive*

Extraction, SBSE). Uma técnica recentemente desenvolvida tem usado uma barra magnética como suporte para recobrimento da fase estacionária e como agitador para a extração. A volume do sorvente para SBSE é cerca de 500 maior do que a área da fibra SPME^{184,185,186}. A SBSE, entretanto, exige uma adaptação no cromatógrafo aumentando o custo da instrumentação. No momento, essa técnica é ainda limitada, uma vez que apenas a fase estacionária apolar, a polidimetilsiloxano, está disponível comercialmente.

6 RERERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

-
- ¹ Ou, Z., *Tese de Doutorado*, Technische Universitat Muncen Institut fur Chemie, , Germany, 2000. (Tese obtida no site <http://www.chemie.de/search> acessado em 03/2005)
- ² Singer, M.M.; Tjerdema, R.S.; *Rev. Environ. Contam. Toxicol.*, **1993**, 133, 185.
- ³ Mulqueen, P.; *Advances Coll. Interface Sci*, **2003**, 106, 83.
- ⁴ Ramachadran, D.S.; Hodson, P.V.; Khan, C.W.; Lee, K., *Ecotoxicol. Eviron. Saf*, **2004**, 59, 300.
- ⁵ Saouter, E.; Pittinger, C.; Feijel, T.; *Ecotoxicol. Eviron. Saf*, **2001**, 50, 153.
- ⁶ <http://www.chemistry.co.nz/deterinfo.htm> acessado em setembro 2004
- ⁷ Campos-Garcia, J.; Esteve, A.; Vazquez-duhalt, R.; Ramos, J.L.; Sobeón-Chávez, G.; *Appllied Environ. Mícron.*, **1999**, 65, 3730.
- ⁸ Scott, J.M.; Jones, M.N.; *Biochim. Biophys. Acta*, **2000**, 1508, 235.
- ⁹ Sanz, J.L.; Culubret, E.; Ferrer, J.; Moreno, A.; Berna, J.L., *Biodegradation*, **2003**, 14, 57.
- ¹⁰ Environmental Health Criteria 169, *Linear Alkylbenzene and Related Compounds*, World Health Organization (WHO), Geneva, 1996.
- ¹¹ Price, P.M.; Clark, J.H.; Martin, K.; Macquarrie, D.J.; Bastock, *Org. Process Res. Dev.*, **1998**, 2, 221.
- ¹² Feijtel, T.C.J.; Webbs, F.; Matthijs, E., *Food Chem. Toxicol*, **2000**, 38, S43.
- ¹³ Foster, C.N. *Sulfonation and Sulfation Process CHEMITHON*; CRC Press; New York, 1997.

- ¹⁴ Berna, J.L.; Cavalli, L.; Renta, C., *Tenside Surfctant. Deterg*, **1995**, 32, 122.
- ¹⁵ Kocal, J. A.; Vora, B. V., Tomotsu, I., *Appl Catal A*, **2001**, 221, 259.
- ¹⁶ Zaid, T.A.; Benmaza, K.; Chitour, C.E., *Chem. Engin. Journal*, **2000**, 76, 99.
- ¹⁷ Medeiros, M. P.; *Dissertação de Mestrado*; Universidade de São Paulo, Brasil, 2000.
- ¹⁸ Wolf, W.; Feijtel, T., *Chemosphere*, **1998**, 36, 1319.
- ¹⁹ Stoll, A.J.; Giger, W., *Anal. Chem.*, **1997**, 69, 2594.
- ²⁰ Van de Plassche, E.; Bruijn, J.; Feijtel, T. , *Tenside Surfctant. Deterg*, **1997**, 34, 242.
- ²¹ Rand, M.G.; *Fundamental Aquatic Toxicology: Effects, Environmental Fate, and Risk Assessment*, 2a ed, Taylor & Francis, USA, 1995, cap. 31.
- ²² Haigh, S. D., *Sci. Total Environ.*, **1996**, 185, 161.
- ²³ Daros, L.; Nasci, C.; Campesan, G.; Sartorello, P.; Sttocco, G.; Meneto, A.; *Mar. Environ. Res.*, **1995**, 39, 321.
- ²⁴ Sáez, M.; Leon, V.M. Parra, G.; Gonzalez-Mazo, E., *J. Chromatogr. A.*, **2000**, 889, 99.
- ²⁵ Sáez, M.;Gomez-Parra, A.; Gonzalez-Mazo, E., *Fresenius J. Anal. Chem.*, **2001**, 371, 486.
- ²⁶ Ou, Z.Q.; Jia, L.Q.; Jin, H.Y.; Yediler, A.; Sun, T.H.; Kettrup, A.; *Chromatographia*, **1997**, 44, 417.
- ²⁷ Brandt, K.K.; Hesselsoe, M.; Roslev, P.; Henriksen, K.; Sorensen, J.; *Appl. Environ. Microbiol.*, **2001**, 67, 2489.
- ²⁸ Warne, M. S. J.; Schifko, A.D., *Eco. Environ.*, **1999**, 44, 196.
- ²⁹ Verne, C.; Moreno, A.; Bravo, J.; Berna, J. L., *Chemosphere*, **2001**, 44, 1749.
- ³⁰ Berna, J.L.; Ferrer, J.; Moreno, A.; Prats, D.; Bevia, F.R., *Tenside Surfactant. Deterg*, **1989**, 26, 101.

- ³¹ Waters, J.; Bebington, W.; Sttingbourne, M.S.; Matthijs, E., *Tenside Surfactant. Deterg*, **1989**, 26, 133.
- ³² Feijtel, T.C.; Struijs, J.; Matthijs, E., *Environ. Toxicol. Chem*, **1999**, 18, 2645.
- ³³ Cloxhuber, C., *Anionic Surfactants, Biochemistry, Toxicology, Dermatology*, Marcel Drekker, USA, 1980, cap. 2.
- ³⁴ Fox, K.; Holt, M.; Daniel, M.; Buckland, H.; Guymer, I., *Sci. Total Environ.*, **2000**, 251-252, 265.
- ³⁵ Gonzalez-Mazo, E.; Forja, J.M.; Gomez-Parra, A., *Environ. Sci. Techonol.*, **1998**, 32, 1636.
- ³⁶ Patterson, D.A., Metcalfe, I.S., Xiong, F., Livingston, J. *Chem. Technol. Biotechnol.*, **2002**, 77,1039.
- ³⁷ Krueger, C.J.; Radakovich, K.M.; Sawer, T.E.; Barber, L.B.; Smith, R.L.; Field, J.A., *Environ. Sci. Technol.*, **1998**, 32, 3954.
- ³⁸ Swisher, R.D.; *Surfactant Biodegradation*, Surfactant Science Series, 2a ed, Marcel Dekker, USA, 1987, vol. 18.
- ³⁹ Theraulaz, F.; Djellal, L., Coulomb, B.; Boudenne, J., *Inter. J. Environ. Anal.Chem.*, **2001**, 81, 55.
- ⁴⁰ Schoberl, P., *Tenside Surfctant. Deterg*, **1989**, 26, 122.
- ⁴¹ Schleheck, D.; Dong, W.; Denger, K.; Heinzle, E.; Cook, A.M.; *Appl. Environ. Microb.* **2000**, 66, 1911.
- ⁴² Gonzalez-mazo, E.; Honing, M.; Barceló, D.; Gomez-parra, A., *Environ. Sci. Technol.*, **1997**, 31, 504.
- ⁴³ Eganhouse, A.P.; Blumfield, D.L.; Kaplan, I.R., *Environ. Sci. Technol*, **1983**, 17, 523.

- ⁴⁴ Connel, D.W.; Wu, R.S.S.; Richardson, B.J.; Leung, K.; Lam, P.S.K.; Connel, P.A., *Chemosphere*, **1998**, 36, 2039
- ⁴⁵ Theraulaz, F.; Djellal, L.; Coulomb, B.; Boudenne, J., *Inter. J. Environ. Anal.Chem.*, **2001**, 81, 55.
- ⁴⁶ Ishiwatari, R.; Takada, H.; Yun, S.; Matsumoto, E., *Nature*, **1983**, 301, 599.
- ⁴⁷ Takada, H.; Ishiwatari, R., *Environ. Sci. Techonol.*, **1990**, 24, 86.
- ⁴⁸ Chalax, N.; Takada, H.; Bayona, J.M., *Mar. Environ. Res.*, **1995**, 40, 77.
- ⁴⁹ Gustafsson, O.; Long, C.M.; Macfarlane, J.; Gschwend, P.M., *Environ. Sci. Technol.*, **2001**, 35, 2040.
- ⁵⁰ Eganhouse, R.P.; Sherblom, P.M., *Marine Environ. Res.*, **2001**, 51, 51.
- ⁵¹ Tsutsumi, S.; Yamagushi, Y.; Nishida, I.; Akiyama, K.; Zakaria, M.P.; Takada, H., *Mar. Pollut. Bull.*, **2002**, 45, 325.
- ⁵² Household & Cosméticos, **2003**, 4, 18, Oils & Fats Editora Ltda.
- ⁵³ Jhonson, S.J.; *Tese de Doutorado*, Universidade de Edinburgo, Escócia,, 2003 (obtido no site <http://www.sanaterre.com/research/msc.htm> em 06/2005)
- ⁵⁴ Relatório da Qualidade das Águas Interiores do Estado de São Paulo, 2003, CETESB.
- ⁵⁵ American Water Works Association, *Water Environment Federation, Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, American Public Health Association, USA, 1995, ed 19.
- ⁵⁶ Relatório da Qualidade das Águas Interiores do Estado de São Paulo, 2004, CETESB.
- ⁵⁷ Aidar, E.; Sigaud-kuter, T.C.C.; Nishiho, L.; Braga, M.C.C.; Farah, R.E.; Kuter, M.B.B., *Mar. Environ.Res.*, **1997**, 43, 55.

- ⁵⁸ Eichhorn, P., Rodrigues, S.V., Baumann, W., Knepper, T.P., *Science of Total Environ*, **2004**, 284, 123.
- ⁵⁹ Medeiros, P.M.; Bícigo, C.M.; *Marine Pollut. Bull.* **2004**, 49, 892.
- ⁶⁰ Medeiros, P.M.; Bícigo, C.M.; *Marine Pollut. Bull.* **2004**, 49, 761.
- ⁶¹ Petrovic, M.; Barceló, D., *Fresenius J. Anal. Chem.* **2000**, 386, 676.
- ⁶² García-Morales, J.L.; Nebot, E.; Romero, L.I.; Sales, D., *Chem. Biochem. Eng. Q.* **2001**, 1, 13.
- ⁶³ Cross, J., *Anionic Surfactants – Chemical Analysis*, Surfactants series v.8, Marcel Drekker, USA, 1977.
- ⁶⁴ Vogt, C.; Heinig, K., *Fresenius J. Anal. Chem.*, **1999**, 363, 612.
- ⁶⁵ Morales-Muñoz, S., Luque-Garcia, J.L., Luque de Castro, M.D., *J. Chromatogr. A.*, **2004**, 1026, 41,
- ⁶⁶ Raynie, D.E.; *Anal. Chem.*, **2004**, 76, 4659.
- ⁶⁷ Koester, C.J.; Simonich, S.L.; Esser, B.K.; *Anal. Chem.*, **2003**, 75, 2813.
- ⁶⁸ Gonzalez-Mazo, E.; Gómez-Parra, A., *Trends in Anal. Chem.*, **1996**, 15, 8, 375.
- ⁶⁹ Barceló, D.; *Environment Analysis Technis Applications and Quality Assurance*, Elsevier, Netherlands, 1993.
- ⁷⁰ Chirila, E.; Carazeanu, I.; Dobrinas, S., *Talanta*, **2000**, 53, 271.
- ⁷¹ Painter, H. A; Zabel, T., *Tenside Surfctant. Deterg*, **1989**, 26, 2.
- ⁷² George, A.L.; White, G.F., *Environ. Toxicol. Chem.*, **1999**, 18, 108.
- ⁷³ Relatório da Qualidade das Águas Interiores do Estado de São Paulo, 2002, CETESB
- ⁷⁴ Nomura, Y.; Ikebukuro, K.; Yokoyama, K.; Takeuchi, T.; Arikawa, Y. Ohno, S. Karube, I., *Biosens. Bioelectron.*, **1998**, 13, 1047.

- ⁷⁵ Reemtsma, T., *J. Chromatogr. A.*, **1996**, 733, 473.
- ⁷⁶ Ding, W.; Lo, J.; Tzing, S., *J. Chromatogr. A.*, **1998**, 818, 2597.
- ⁷⁷ Resiser, R.; Toljander, H.O.; Giger, *Anal. Chem.*, **1997**, 69, 4923.
- ⁷⁸ Cevoy, J.; Giger, W.; *Environ. Sci. Technol.*, **1986**, 20, 376.
- ⁷⁹ Ding, W.; Tzing, S.; Lo, J., *Chemosphere*, **1999**, 38, 2597.
- ⁸⁰ Roberts, J. *Turk J. Chem.*; **2002**, 26, 669.
- ⁸¹ Heinig, K.; Vogt, C., *Electrophoresis*, **1999**, 20, 3311.
- ⁸² Herrero-Martinez, J.M.; Simó-Afonso, E.F.; Ramis-Ramos, G., *Electrophoresis*, **2001**, 22, 2017.
- ⁸³ Barceló, D.; Riu, J., *Analyst*, **2001**, 126, 825.
- ⁸⁴ Kanz, C.; Giger, W., *Anal. Chem.*, **1998**, 70, 913.
- ⁸⁵ Riu, J.; Gonzalez-Mazo, Gomez-Parra, Barceló, D. *Chromatographia*, **1999**, 49, 427.
- ⁸⁶ Takada, H.; Ishiwatari, R., *Environ. Sci. Technol.*; **1987**, 21, 875.
- ⁸⁷ Zeng, E.Y.; Yu, C.C., *Environ. Sci. Technol.*, **1996**, 30, 322.
- ⁸⁸ Hartmann, P.C.; Quinn, J.G.; King, J.W.; Tsutsumi, S.; Takada, H., *Environ. Sci. Technol.*, **2000**, 34, 900.
- ⁸⁹ Alpendurada, M.F., *J. Chrom. A.*, **2000**, 874, 3.
- ⁹⁰ Havenga, W.J.; Rohwer, E.R.; *Internal Environ. Chem.*, **2000**, 78, 205.
- ⁹¹ Poerschmann, J., *J. Microcolumn Separations*, **2000**, 12, 603.
- ⁹² Valor, I.; Pérez, M.; Coprtada, C.; Apraiz, D.; Moltó, J.C.; Font, G., *J. Sep. Sci.*, **2001**, 24, 39.
- ⁹³ Doong, R.; Chang, S.; Sun, Y.; *J. Chromatogr. A.*, **2000**, 879, 528.

-
- ⁹⁴ Hawthorne, S.B.; Grabanski, C.B.; Hageman, K.J.; Miller, D.; *J. Chromatogr. A.*, **1998**, 814, 151.
- ⁹⁵ Rayne, D.E.; *Anal. Chem.*, **2004**, 76, 4659.
- ⁹⁶ Pawliszyn, J., *Solid Phase Micro extraction: Theory and Practice*, Wiley –VCH, USA, 1997.
- ⁹⁷ Saraullo, A.; Martos, P. A.; Pawliszyn, J.; *Anal. Chem.*, **1997**, 69, 1992.
- ⁹⁸ Vas, G.; Vekey, K., *J. Mass Spec.*, **2004**, 39, 233.
- ⁹⁹ Potter, D.W.; Pawliszyn, J., *Environ. Sci. Technol.*, **1994**, 28, 298.
- ¹⁰⁰ Gorecki, T.; Martos, P.; Pawliszyn, J.; *Anal. Chem.*, **1998**, 70, 19.
- ¹⁰¹ Prosen, H.; Zupancic-Kralj, L.; *Trends in Anal. Chem.*, **1999**, 18, 4, 272.
- ¹⁰² Doong, R.; Chang, S.; Sun, Y, *J. Chrom. A*, **2000**, 879, 2, 177
- ¹⁰³ Flamini, G.; Cioni, P.L.; Morelli, I.; *J. Chrom. A*, **2003**, 998, 229.
- ¹⁰⁴ Sartoratto, A.; Augusto, F.; *Chromatographia*, **2003**, 57, 5/6, 351.
- ¹⁰⁵ Augusto, F.; Valente, A.L.P.; Tada, E. S.; *J. Chrom. A*, **2000**, 873, 117.
- ¹⁰⁶ Martos, P.A.; Tese de doutorado, University of Waterloo, Canadá, 1997. (obtido no site <http://theses.uwaterloo.ca/index.cfm> acessado em 06/2005)
- ¹⁰⁷ Chen, Y.; Tese de doutorado, University of Waterloo, Canadá, 2004. (obtido no site <http://theses.uwaterloo.ca/index.cfm> acessado em 06/2005)
- ¹⁰⁸ Dron, J.; Garcia, R.; Millán, E.; *J. Chrom. A*, **2002**, 963, 259.
- ¹⁰⁹ Berrada, H.; Font, G.; Moltó, C., *J. Chrom.*, **2004**, 1042, 1-2, 9.
- ¹¹⁰ Cam, D.; Gagni, S.; Meldolesi, L.; Galletti, G.; *J. Chrom. Sci.*, **2000**, 38, 55.
- ¹¹¹ Sartoratto, A; Dissertação de mestrado, Universidade de Campinas, 2001.
- ¹¹² Hook, G.L.; Kimm, G.L.; Hall, T, Smith, P. A, *Trends in Anal. Chem.*, **2002**, 21, 8, 534.

-
- ¹¹³ Arthur, L.C.; Killam, L.M.; Bucholz, Pawliszyn, J., *Anal. Chem.*, **1992**, 64, 1960.
- ¹¹⁴ Eisert, R.; Levsen K.; *J. Chrom. A*, **1996**, 733, 143.
- ¹¹⁵ Torroba, M.A.F., Tese de doutorado, University of de Ra Rioja, Espanha, 2004. (obtido do site <http://www.unirioja.es/servicios/sp/tesis> acessado em 07/2005)
- ¹¹⁶ Valente, A.L., Augusto, F., Montero, L., Rocha, E.C., *Quim. Nova*, **1998**, 21, 6,
- ¹¹⁷ Lambropoulou, D.A.; Sakkas, V.A.; Albanis, T.A.; *Anal. Bioanal. Chem.*, **2002**, 374, 932.
- ¹¹⁸ Semb, S.I.; Pedersen-Bjergard, S.; Brevik, E.M.; *Chemosphere*, **2002**, 49, 1349.
- ¹¹⁹ Valor, I.; Prez, M.; Cortada, C.; Moltó, J.C.; Font, G.; *J. Sep. Sci.*, **2001**, 24, 39.
- ¹²⁰ Shariati-Feizabadi, S.; Yamini, Y.; Bahramifar, N.; *Anal. Chim. Acta*, **2003**, 489, 21.
- ¹²¹ He, Y.; Wang, Y.; Lee, K.H.; *J. Chrom. A*, **2000**, 874, 149.
- ¹²² Negrão, M.; R.; Alpendurada, M.F.; *J. Chrom. A*, **1998**, 823, 211.
- ¹²³ Doong, R.; Chang, S.; Sun, Y.; *J. Chrom. Sci.*, **2000**, 38, 528.
- ¹²⁴ Djozan, D.; Assadi, Y.; Monitoring of Polycyclic, *Microchemical J.*; **1999**, 63, 276.
- ¹²⁵ Lambropoulou, D.A.; Sakkas, V.A.; Albanis, T.A.; *J. Chrom. A*, **2003**, 1010, 1.
- ¹²⁶ Stahl, D.C.; Tilotta, D.C.; *Environ. Sci. Technol.*, **2001**, 35, 3507.
- ¹²⁷ Vaz, J.M.; *Talanta*, **2003**, 60, 4, 687.
- ¹²⁸ Parreira, F.V., Cardeal, Z.L., *Quim. Nova*, **2005**, 28, 4, 646.
- ¹²⁹ Llompart, M.; Li, K.; Fingas, M.; *Talanta*, **1999**, 48, 451.
- ¹³⁰ Grimm, Bergman, C.; Delgado, J.T.; Bryant, R.; *J. Agric. Chem.*, **2001**, 49, 245.
- ¹³¹ Alberro, B.; Sanchez-Brunete, C.; Tadeo, J.L.; *J. AOAC Inter.* , **2003**, 86, 3, 576.
- ¹³² Wang, Y.; Tese de doutorado, Faculty of the Virginia Polytechnic Institute, EUA, 1997
- ¹³³ Engelmann, M.D.; Hinz, D.; Wenclawiak, B.W.; *Anal. Bioanal. Chem.*, **2003**, 375, 460.

-
- ¹³⁴ Makarov, E.D., Stolyarov, B.V., Berezkin, V.G., Bychinskaya, I.V., Zenkevich, I.G., *J. Anal. Chem.*, **2005**, 60, 1.
- ¹³⁵ Wang, J., Jiang, D., Yan, X., *Anal. Chim. Acta*, **2005**, 545, 232.
- ¹³⁶ Koziel, J.A.; Shumer, B.; Pawliszyn, J., *J. High Resol. Chrom.*, **2000**, 23, 4, 343.
- ¹³⁷ Montgomery, D.C., Runger, C.C., *Applied Statistics and Probability for Engineers*, 3 ed, Wiley, USA, 2002.
- ¹³⁸ Neto, B. B.; Scarmínio, I.S.; Bruns, R. E.; *Planejamento e Otimização de Experimentos*, 3º ed., edit.UNICAMP, **2001**
- ¹³⁹ Lopez-avila, V.; *Critical Ver. Anal. Chem.*, **1999**, 29,195.
- ¹⁴⁰ Pawliszyn, J.; *Solid Phase Extraction*, Wiley – VCR, USA, **1997**
- ¹⁴¹ Gutafsson, O.; Long, C.M.; Macfarlane, J.; Gschwend, P.M.; *Environ. Sci. Technol.* **2001**, 35, 2040.
- ¹⁴² Ponn, K.; Lam, P.K.S.; Lam, M.H.W.; *Chemosphere*, **1999**, 39, 6, 303.
- ¹⁴³ Yan, Y.H.; Lee, K.H.; *J. Chrom. A*, **2000**, 874, 149.
- ¹⁴⁴ Bartelt, R.J.; *Anal. Quim.*, **1997**, 69.
- ¹⁴⁵ Valente, A.L.P., Augusto, F., *Quim. Nova*, **2000**, 23, 4, 523,
- ¹⁴⁶ Pini, G.F., Brito, E.S., Garcia, N.H.P., Valente, A.L.P., Augusto, *J. Braz. Chem. Soc.*, **2004**, 15, 2, 267.
- ¹⁴⁷ Tombesi, N.B., Freije, R.H., Augusto, F., *J. Braz. Chem. Soc.*, **2004**, 15, 5, 658.
- ¹⁴⁸ Araújo, P. W.; Brereton, R.G., *Trends in Anal. Chem.*, **1996**, 15,1, 26.
- ¹⁴⁹ Eiras, S.P., Cuelbas, J.C.; Andrade, J.C., *Quim. Nova*, **1994**, 17, 2, 216.
- ¹⁵⁰ Araújo, P. W.; Brereton, R.G., *Trends in Anal. Chem.*, **1996**,15, 2,63.

- ¹⁵¹ Brereton, R.G., *Chemometrics : Data Analysis for the Laboratory and Chemical Plant*, Wiley, USA, 2003.
- ¹⁵² Calado, V.; Montgomery, D.C., *Planejamento de Experimentos usando o Statistica*, e-paper, 2003.
- ¹⁵³ Cox, D.R.; Reid, N., *The Theory of the Design of Experiments*, Chapman & Hall/CRC, England, **2000**.
- ¹⁵⁴ Mejias, R.C.; Marin, R.N.; Moreno, M.V.G.; Barroso, C.G.; *J. Chrom. A*, **2003**, 995, 11.
- ¹⁵⁵ Salafranca, J.; Domeño, C.; Fernández, C.; Nérin, C., *Anal. Chim. A*, **2003**, 477, 257.
- ¹⁵⁶ Meyers, R., *Encyclopedia of Analytical Chemistry*, Wiley, USA, 2000
- ¹⁵⁷ Matos, G.D., Filho, E.R.P., Poppi, R., Arruda, M.A., *Analytica*, **2003**, 6, 38.
- ¹⁵⁸ Avouras, I., Koutrakis, P., Tsapakis, M., Lagoudaki, E.G., Stephanou, E.G., Bayer, D. V., Oyola, P., *Environ. Sci. Technol.*, **2001**, 35, 2288.
- ¹⁵⁹ Werber, J., Beeg, M., Bartsch, C., Feller, K., Garcia, D., Reichenbacher, M., Danzer, K., *J. High Res. Chromatogr.*, **1999**, 22, 6, 322.
- ¹⁶⁰ Mildner-Szkudlarz, S., Jelén, H., Zawirka-Wojtasiak, R., *Food Chemistry*, **2003**, 83, 515.
- ¹⁶¹ Zambonim, C.G., Balest, L., Benedetto, G.E., Palmisano, F., *Talanta*, **2005**, 66, 1, 261.
- ¹⁶² Davoli, E., Gangai, M.L., Morselli, L., Tonelli, D., *Chemosphere*, **2003**, 51, 357.
- ¹⁶³ Cam, D.; Gagni, S.; Meldolesi, L.; Galletti, G.; *J. Chrom. Sci.*, **2000**, 38, 55.
- ¹⁶⁴ Galdámez, E.V.C., Dissertação de mestrado, Universidade de São Paulo, Brasil, 2002.
- ¹⁶⁵ Dron, J.; Garcia, R.; Millán, E.; *J. Chrom. A*, **2002**, 963, 259.
- ¹⁶⁶ Ezquerro, O.; Pons, B.; Tena, M.T.; *J. Chrom. A*, **2003**, 1008, 123.

- ¹⁶⁷ Meruva, N.K., , Tese de doutorado, Michigan University, EUA, 1998. (obtido do site <http://www.emich.edu/halle/> acessado em 07/2005)
- ¹⁶⁸ Mata, A.R., Nelson, D.L., Afonso, R.J.C., *Cien. Tecnol. Aliment. Campinas*, **2004**, 24,1, 151.
- ¹⁶⁹ Silva, F.C.; Faria, C.G., Gabriel, G.M., Cardeal, Z.L., *Quim. Nova*, **2001**, 24, 6, 748.
- ¹⁷⁰ Langenfeld, J.J.; Hawthorne, S.B.; Miller, D.; *Anal. Chem.*, **1996**, 740, 139.
- ¹⁷¹ Grob, R.L , *Modern Practice of Gas Chromatography*, 4 ed, Wiley, USA, **1995**
- ¹⁷² Jennings, W.; Mittlehfehltd, E.; Strempel, P., *Analytical Gas Chromatography*, Academic Press, USA, 1997.
- ¹⁷³ Langenfeld, J.J., Hawthorne, S.B., Miller, D.J., *J. Chrom. A*, **1996**, 740, 139,
- ¹⁷⁴ Miller, J.N., Miller, J.C., *Estatística e Quimiometria para Química Analítica*, Prentice Hall, 2002.
- ¹⁷⁵ Dean, J.R., *Methods for Environment Trace Analysis*, Wiley, England, 2003.
- ¹⁷⁶ Foster, G.D.; Roberts, E.C.; Gruessner, B.; Velinsky, D.J., *Applied Geochemistry*, **2000**, 15, 901,
- ¹⁷⁷ Iran, R.; Tang, Y.; Brook, J.R.; Vicent, R.; Keeler, G.J.; *Inter. J. Environ. Chem*, **1996**, 63, 315.
- ¹⁷⁸ Madichie, C.; Greenway, G.M.; Mccreedy, T.; *Anal. Chim. Acta*, **1999**, 392, 39.
- ¹⁷⁹ Heringa, M.B., Hermens, J.L.M., *Trends in Anal. Chem.*, **2003**, 22, 10, 575.
- ¹⁸⁰ Paschke, A.; Popp, P.; Schürmann, G, *Fresenius J. Anal. Chem*, **1999**, 363, 426,
- ¹⁸¹ Ackerman, A.H.; Hurtubise, R.J., *Talanta*, **2000**, 52, 853.
- ¹⁸² Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Resolução Normativa nº1/78 D.º de 27/11/78
- ¹⁸³ *Pro-teste*, 3,8 ,2002

¹⁸⁴ Baltussen, E., Sandra, P., David, F., Cramers, C., *J. Microcolumn Sep.*, **1999**, 11,10, 737.

¹⁸⁵ Popp, P.; Bauer, C.; Wennrich, L.; *Anal. Chim. Acta.*, **2001**, 436, 1.

¹⁸⁶ David, F.; Tienpont, B.; Sandra, P.; *LC GC Europe*, **2003**, july, 1.