

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
DEPARTAMENTO ACADÊMICO DE TECNOLOGIA EM ALIMENTOS
TECNOLOGIA EM ALIMENTOS**

JUNIOR VAN BEIK

**MICROEXTRAÇÃO LÍQUIDO-LÍQUIDO DISPERSIVA PARA
DETERMINAÇÃO DE BISFENOL A EM AMOSTRAS DE ÁGUA POR
CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

PONTA GROSSA

2017

JUNIOR VAN BEIK

**MICROEXTRAÇÃO LÍQUIDO-LÍQUIDO DISPERSIVA PARA
DETERMINAÇÃO DE BISFENOL A EM AMOSTRAS DE ÁGUA POR
CROMATOLOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito parcial à obtenção do título de Tecnólogo em Alimentos, do Departamento Acadêmico de Tecnologia em Alimentos, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Eduardo S. Chaves
Coorientadora: Flavia Aparecida Henrique

PONTA GROSSA

2017



TERMO DE APROVAÇÃO

MICROEXTRAÇÃO LÍQUIDO-LÍQUIDO DISPERSIVA PARA DETERMINAÇÃO DE BISFENOL A EM AMOSTRAS DE ÁGUA POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA

Por

JUNIOR VAN BEIK

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi apresentado em _____ de _____ de 2017 como requisito parcial para a obtenção do título de Tecnólogo em Alimentos. O candidato foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho _____.

Prof^o. Dr^o. Eduardo S. Chaves
Orientador

Flavia Aparecida Henrique
Co-Orientadora

Prof^a. Dr^a. Elenise Sauer
Membro titular

Priscila K. Reis
Membro titular

Dedico este trabalho à minha mãe, pai e a
meu avô Alcides Van Beik.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu orientador Prof. Dr. Eduardo S. Chaves, pela sabedoria com que me guiou nesta trajetória, a minha coorientadora Flávia Henrique e a todos meus amigos do laboratório de métodos instrumentais em especial a Klaiani Bez Fontana, Priscila Karachinski dos Reis e Carol Gonçalves pela ajuda e apoio.

A Deus por ter me dado saúde e força para superar as dificuldades. A esta Universidade, seu corpo docente e direção, aos meus colegas de sala e a todos meus professores.

Gostaria de deixar registrado também, o meu reconhecimento à minha família, pelo amor, incentivo e apoio, pois acredito que sem o apoio deles seria muito difícil vencer esse desafio.

Enfim, a todos os que por algum motivo contribuíram para a realização deste trabalho.

RESUMO

VAN BEIK, Junior. **Microextração líquido-líquido dispersiva para determinação de Bisfenol A em amostras de água por cromatografia líquida de alta eficiência.** 2017. 52 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Tecnologia em Alimentos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Ponta Grossa, 2017.

A microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME) combinada com Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC) foi proposta para extração e determinação de bisfenol A (BPA) em amostras de água. Nas condições otimizadas, o método proposto permitiu alcançar um limite de detecção (LOD) de $1,3 \mu\text{g L}^{-1}$ e desvio padrão relativo menor que 6,7%, demonstrando a boa precisão do método proposto. Um fator de enriquecimento de 18 foi encontrado, a exatidão foi avaliada por meio de testes de recuperação, os valores de recuperação obtidos (91 a 95%), demonstram a boa exatidão do método proposto. Os testes de migração foram realizados para avaliar a possível migração de BPA das garrafas plásticas de diferentes materiais (policarbonato e polipropileno) para amostras de água. Considerando as condições avaliadas, os resultados obtidos mostraram que a migração de BPA de garrafas para a água não foi significativa, uma vez que as concentrações de BPA encontradas eram muito menores do que os limites estabelecidos para BPA em amostras de água ($0,6 \text{ mg L}^{-1}$). Nas amostras de água mineral comercial analisadas, as concentrações de BPA determinadas estavam abaixo do limite de BPA estabelecido para a legislação brasileira.

Palavras-chave: Pré-concentração, Migração de BPA, garrafas plásticas.

ABSTRACT

VAN BEIK, Junior. **Dispersive liquid-liquid microextraction for bisphenol A determination in water samples by high performance liquid chromatography.** 2017. 52 p. Graduation Final Report in (Food Technology) - Federal Technology University - Paraná. Ponta Grossa, 2017.

The dispersive liquid-liquid microextraction (DLLME) combined to high performance liquid chromatography (HPLC) was proposed for extraction and determination of bisphenol A (BPA) in water samples. At the optimized conditions the proposed method allowed limit of detection (LOD) of $1,3 \mu\text{g L}^{-1}$ and relative standard deviation up to 6,7 %, demonstrating the good precision of the proposed method. An enrichment factor of 18 was found, an accuracy was assessed by means of recovery tests, the recovery values obtained (91 to 95%), demonstrate the good accuracy of the proposed method. Migration tests were performed in order to evaluate the possible migration of BPA from plastic bottles from different materials (polycarbonate and polypropylene) to water samples. Considering the evaluated conditions, the obtained results showed that the migration of BPA from bottles to the water was not significant, since the BPA concentrations found were much lower than those limits established for BPA in water samples ($0,6 \text{ mg L}^{-1}$). In the analyzed commercial mineral water samples, the determined BPA concentrations were below the BPA limit established for Brazilian Legislation.

Keywords: Pre-concentration, BPA migration, Plastic bottles.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Símbolos de identificação dos materiais plásticos segundo a norma ABNT NBR 13230. Poli (tereftalato de etileno) (PET); Polietileno de alta densidade (PEAD); Policloreto de Vinila (PVC); Polietileno de baixa densidade (PEBD); Polipropileno (PP); Poliestireno (PS); Policarbonato (PC) e outros.....	18
Figura 2 - Estrutura química do poli (tereftalato de etileno).....	19
Figura 3 - Estrutura química do polietileno.....	20
Figura 4 - Estrutura química do polipropileno.....	21
Figura 5 - Estrutura química do policarbonato.....	22
Figura 6 - Estrutura química do bisfenol A.....	24
Figura 7 - Etapas envolvidas no procedimento da DLLME.....	30
Figura 8 - Eficiência de diferentes solventes extratores avaliados para extração de BPA por DLLME. Condições experimentais: 5 mL de amostra, 5 minutos em centrifuga a 3000 rpm, 1000 µL de mistura de extrator (200 µL) e dispersor (800 µL acetona).....	35
Figura 9 - Eficiência de diferentes solventes dispersores avaliados para extração de BPA por DLLME. Condições experimentais: 5 mL de amostra, 5 minutos em centrifuga a 3000 rpm, 1000 µL de mistura extratora (200 µL clorofórmio) e dispersor (800 µL).....	36
Figura 10 - Avaliação dos diferentes volumes do solvente extrator na extração e pré-concentração de BPA por DLLME. Condições experimentais: 5 mL de amostra, 5 minutos em centrifuga a 3000 rpm, 1000 µL de mistura extratora clorofórmio e acetona.....	37
Figura 11 - Avaliação do efeito da força iônica na extração e pré-concentração de BPA por DLLME. Condições experimentais: 5 mL de amostra, 5 minutos em centrifuga a 3000 rpm, 1000 µL de mistura extratora clorofórmio (200 µL) e acetona (800 µL).....	38
Figura 12 - Avaliação do efeito da força iônica na extração e pré-concentração de BPA por DLLME. Condições experimentais: 5 mL de amostra, NaCl 2% m/v, 5 minutos em centrifuga a 3000 rpm, 1000 µL de mistura extratora clorofórmio (200 µL) e acetona (800 µL).....	39

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Propriedades Físico-Químicas do BPA.....	24
Tabela 2 - Parâmetros de mérito para determinação de BPA em amostras de água usando a microextração líquido-líquido dispersiva com posterior análise em HPLC.....	40
Tabela 3 - Trabalhos sobre a determinação de BPA em amostras de águas.....	41
Tabela 4 - Concentração de BPA ($\mu\text{g L}^{-1}$) obtidas após extração por DLLME e posterior determinação por HPLC em diferentes tempos de exposição à embalagem. * médias de duas replicatas, ** embalagem informava "livre de BPA".....	42
Tabela 5 - Concentração de BPA ($\mu\text{g L}^{-1}$) obtidas após extração por DLLME e posterior determinação por HPLC. Amostras de água mineral adquiridas no comércio local em garrafas de 500 mL.....	45

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	13
2 OBJETIVO.....	15
2.1 OBJETIVO GERAL.....	15
2.2 OBJETIVO ESPECÍFICO.....	15
3 REVISÃO DE LITERATURA.....	16
3.1 TIPOS DE POLÍMEROS EM EMBALAGENS PLÁSTICAS	17
3.1.1 Poli tereftalato de etileno (PET)	18
3.1.2 Polietileno (PE)	19
3.1.3 Policloreto de vinila (PVC)	20
3.1.4 Polipropileno (PP)	21
3.1.5 Poliestireno (PS)	22
3.1.6 Policarbonatos (PC)	22
3.2 BISFENOL A (BPA)	23
3.2.1 Efeito do BPA na saúde humana	25
3.2.2 Técnicas de Extração de BPA	27
3.3 MICROEXTRAÇÃO LÍQUIDO-LÍQUIDO DISPERSIVA (DLLME)	28
3.4 CROMATOGRIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA (HPLC)	31
4 MATERIAIS E MÉTODOS	33
4.1 INSTRUMENTAÇÃO	33
4.2 MATERIAIS E REAGENTES	33
4.3 MÉTODOS ANALÍTICOS	34
4.3.1 Microextração líquido-líquido dispersiva	34
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	35
5.1 OTIMIZAÇÕES PARA DLLME	35
5.2 SELEÇÃO DO SOLVENTE EXTRATOR	35
5.3 TIPO DO SOLVENTE DISPERSOR	36
5.4 OTIMIZAÇÃO DO VOLUME DA SOLUÇÃO EXTRATORA	37
5.5 EFEITO DA FORÇA IÔNICA	38
5.6 EFEITO DO pH	39
5.7 PARÂMETROS DE MÉRITO	40
5.8 MIGRAÇÃO DE BPA	41

6 CONCLUSÃO.....	45
7 REFERÊNCIAS.....	46

1 INTRODUÇÃO

O bisfenol A (BPA) é um monômero empregado como intermediário de vários processos de manufatura industriais, tais como na produção de policarbonatos (PC), misturas de PC, resinas epóxi (PEDERSEN et al., 2015), retardantes de chama e vários tipos de papéis térmicos para cópias sem carbono (MONTAGNER, 2010). O PC devido a suas boas propriedades físicas e químicas é utilizado na fabricação de componentes eletrônicos, industriais e de embalagens, as quais podem ser utilizadas para alimentos, como garrafas plásticas, copos e recipientes (ŞANA SUNGUR et al., 2014).

A atividade estrogênica do BPA vem sendo reportada desde 1993 por Krishnan et al., (1993). Estudos in vitro demonstraram que existem efeitos do BPA mesmo em baixas concentrações, como a interrupção da ação hormonal da tireoide e o bloqueio da síntese de testosterona (GÓMEZ et al., 2009). No Brasil a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) por meio da RDC nº 56, de 16 de novembro de 2012, estabelece a proibição do uso do BPA em mamadeiras e artigos similares destinados à alimentação de lactentes (crianças menores que doze meses de idade) e o limite de migração específica para o alimento em $0,6 \text{ mg Kg}^{-1}$. Neste sentido, a determinação de BPA em amostras de alimentos armazenadas em embalagens plásticas, tais como água mineral, é fundamental para o controle de qualidade e segurança alimentar dos consumidores.

Considerando que o BPA se encontra, geralmente, em concentrações baixas ($\mu\text{g L}^{-1}$), é fundamental que os métodos analíticos possuam uma detectabilidade suficientemente sensíveis para alcançar baixos limites de detecção (LOD). Principalmente nestes casos, a etapa de preparo de amostra é crucial para a eficiência de uma análise química.

Diante disso a microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME) apresenta-se como uma ótima alternativa para preparo de amostras de alimentos e ambientais, pois se baseia na partição do analito entre a fase doadora (amostra) e aceptora (solvente orgânico), onde a polaridade do analito determina sua solubilidade na fase aceptora (Moreira et al., 2014; Rezaee et al., 2006), possibilitando a eficiente extração e pré-concentração dos analito em solução. Nesse sentido, a extração e pré-concentração de BPA em amostras de água por DLLME apresenta vantagens

em relação aos procedimentos convencionais como a extração líquido-líquido (LLE – *liquid-liquid extraction*) e a microextração em fase líquida (LPME – *liquid phase microextraction*), tais como, baixo tempo de extração, rapidez, baixo custo, e a obtenção de altos valores de enriquecimento (MOREIRA et al.; 2014).

Desse modo o objetivo do presente trabalho é a determinação do BPA em amostras de água armazenadas em diferentes materiais plásticos, após a otimização de parâmetros da DLLE como tipo e volume do solvente extrator e dispersor, força iônica e pH.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Determinar a concentração de bisfenol A (BPA) em amostras de água mineral armazenadas em recipientes plásticos por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC) após microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME).

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Otimizar as condições cromatográficas para a determinação de BPA em amostras de água, fluxo e composição da fase móvel;
- Otimizar o tipo e o volume dos solventes extrator e dispersor, pH e a força iônica da solução para realização da DLLME, visando uma maior eficiência da extração e pré-concentração do BPA;
- Determinar os parâmetros de mérito: faixa linear, coeficiente de correlação linear (R^2), desvio padrão relativo (RSD), limite de detecção (LOD), limite de quantificação (LOQ), fator de enriquecimento (FE) e avaliar a exatidão do método proposto, por meio de testes de recuperação;
- Aplicar o método para avaliação da migração de BPA em diferentes amostras de água armazenadas em recipientes plásticos.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A embalagem está presente na vida das pessoas em toda parte do planeta, seja em países desenvolvidos ou em emergentes. Atualmente convivemos com muitos produtos embalados, provenham eles de forma industrial ou artesanal, (BERNARDO et al., 2015). Segundo Freire et al., (2008) as embalagens desempenham um papel fundamental na indústria alimentícia graças as suas inúmeras funções. Além de conter o produto, a embalagem é muito importante na sua conservação, mantendo qualidade e segurança e atuando como barreira contra fatores responsáveis pela deterioração química, física e microbiológica.

Com o início da Revolução Industrial no século XVIII, o surgimento da produção em série e conseqüentemente a produção em larga escala, o uso de embalagens trouxe um grande crescimento, tendência que percorre até os dias atuais, utilizando como matéria prima diversos tipos de materiais como: lata, papel, vidro, alumínio, plástico, dentre outros (MOURA; BANZATO, 1997).

O material que revolucionou o mercado de embalagens foi o plástico, como observado por Charlotte e Fiell (2001), os polímeros sintéticos ao serem introduzido pela primeira vez em 1940, modificaram a pesquisa e aplicação de materiais do século XX. O seu desenvolvimento é atribuído ao químico inglês Alexander Parkes por volta de 1840. Assim como o papel essa novidade trouxe consigo infinitas possibilidades para a criação de embalagens, isso devido a sua flexibilidade podendo assumir variados formatos. Os materiais plásticos usados na embalagem são muito diversificados na sua estrutura química e apresentam propriedades versáteis em função do processamento, dos aditivos incorporados e da combinação com outros polímeros (JORGE, 2013).

As embalagens plásticas atualmente são usadas em aproximadamente 80% dos alimentos pré-preparados e conservados, tem-se como exemplo a resina Politereftalato de etileno (PET), a mais utilizada na produção de embalagens para alimentos e com uma demanda crescente principalmente para garrafas de bebidas carbonatadas, água mineral e óleos comestíveis (TOMISAWA, 2017). Ela traz consigo a vantagem de ser translúcido e de ótima resistência mecânica, podendo ser moldada em vários processos (BARÃO, 2011). Os filmes plásticos flexíveis, por sua vez, são muito utilizados em sacarias, lacres, embalagens secundárias em

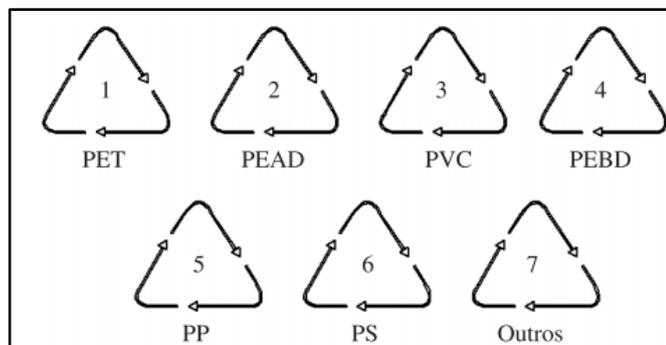
substituição à caixa de papelão e terciárias como no caso de envolvimento de paletes (DANTAS; LIMA, 2007).

3.1 TIPOS DE POLÍMEROS EM EMBALAGENS PLÁSTICAS

A obtenção das embalagens plásticas é realizada a partir de polímeros orgânicos ou inorgânicos de alto peso molecular, constituídos de unidades estruturais unidas entre si por ligações covalentes formando cadeias lineares ou modificadas (KAREL; LAND, 2003). O plástico, como é denominado comercialmente, é um material que tem a capacidade de ser moldado em condições especiais de calor e pressão (TRIBST et al., 2008). Segundo Jorge (2013) os plásticos podem ser classificados em homopolímeros ou copolímeros de acordo com o número de unidades básicas de natureza química (monômeros) que compõem as macromoléculas. Em vários casos, os nomes dos polímeros são derivados dos monômeros antecipados do prefixo *poli*.

Atualmente existe a produção de todos os tipos de polímeros desde os naturais até os sintéticos. Basicamente todas as embalagens que contém os alimentos são fabricadas a partir de polímeros sintéticos, para uma melhor organização e identificação a Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) estabeleceu a norma ABNT NBR 13230 de 2008, que trata dos símbolos de identificação dos materiais plásticos recicláveis, a Figura 1 apresenta os seis materiais com seus respectivos símbolos.

Figura 1. Símbolos de identificação dos materiais plásticos segundo a norma ABNT NBR 13230. Politereftalato de etileno (PET); Polietileno de alta densidade (PEAD); Policloreto de Vinila (PVC); Polietileno de baixa densidade (PEBD); Polipropileno (PP); Poliestireno (PS); Policarbonato (PC) e outros.



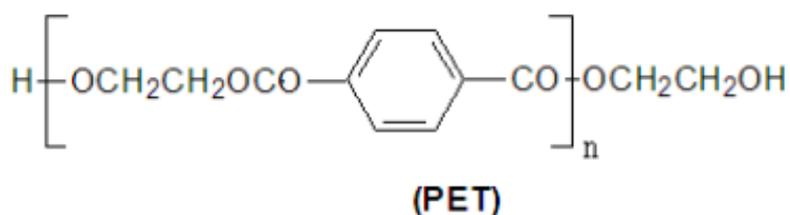
Fonte: Adaptado de Coltro e Duarte (2013)

3.1.1 Politereftalato de etileno (PET)

O politereftalato de etileno (PET), foi desenvolvido em 1941 pelos químicos ingleses Whilnfield e Dicson, mas só a partir de 1950 começou a ser utilizado em escala industrial nos Estados Unidos pela empresa norte americana E.I Du Pont de Nemours, e também na Inglaterra onde era utilizado na fabricação de fibras (ROMÃO; SPINACÉ; PAOLI, 2009). Somente nos anos 70, após cuidadosa revisão dos aspectos de segurança e meio ambiente elas começaram a ser usadas. Atualmente elas são as fibras sintéticas comercialmente mais importantes da família dos poliésteres além de serem as mais produzidas no mundo, sendo amplamente utilizada na fabricação de garrafas (TOMISAWA, 2017).

A obtenção do PET é proveniente da reação do ácido tereftálico com o etileno glicol a uma alta temperatura com o emprego de catalisador. Ao fim do processo se obtém um poliéster, a Figura 2 ilustra sua estrutura química.

Figura 2. Estrutura química do Politereftalato de etileno



Fonte: Adaptado de Batista (2010).

Ele apresenta certas propriedades como ser transparente, brilhante, leve e facilidade de moldagem, características que proporcionam alta resistência mecânica (impactos), outra peculiaridade é sua capacidade de barreira a gases e odores. Devido a essas características e ao seu peso ser muito menor que as embalagens tradicionais, ele é largamente utilizado pelas indústrias de bebidas por reduzir o custo de transporte e produção (LIMA, 2001).

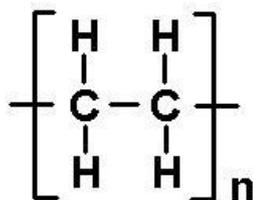
O PET pode ser usado em um enorme número de aplicações graças a sua versatilidade, mas é nas indústrias de bebidas que ele se destaca, desde a década de 1990 a sua aplicação vem se expandindo, principalmente na indústria de refrigerantes onde ele vem substituindo cada vez mais outros tipos de embalagens, como o vidro (BARÃO, 2011). Outras indústrias como o de envase de água mineral e óleos comestíveis também vêm utilizando esse tipo de embalagens (BATISTA, 2010).

3.1.2 Polietileno (PE)

O polietileno (PE) é um termoplástico transparente, obtido pela polimerização de olefinas (hidrocarbonetos insaturados). Baseado na sua estrutura molecular, ele pode se apresentar linear ou ramificado, este tipo de estrutura irá influenciar a densidade aparente do polímero de tal modo que existam polietileno de alta (PEAD), média e baixa densidade (PEBD). Sua resistência e flexibilidade são fatores essenciais para as numerosas opções de embalagem (FABRIS et al., 2006).

A Figura 3 ilustra a estrutura do polietileno, uma das mais simples se comparado a outros polímeros existentes no mercado, o que lhe confere uma grande versatilidade no processo de transformação e aplicação, obtendo características próprias de densidade, peso molecular e distribuição de peso molecular. Os polietilenos são inertes a maioria dos produtos químicos comuns, isso se dá devido à sua natureza parafínica, seu alto peso molecular e sua estrutura parcialmente cristalina (ALMAADEED et al. 2015). E na maioria dos casos, em condições normais não são tóxicos, sendo inclusive utilizados em contato com alimentos e fármacos (COUTINHO; MELLO; MARIA, 2003).

Figura 3. Estrutura química do Polietileno



Fonte: Marczak (2004)

De acordo com o dossiê técnico do Serviço Brasileiro de Respostas Técnicas (SBRT) de 2011, as principais aplicações do PE estão no setor de carnes, frutas e para empacotar produtos alimentícios secos como cereais, farinha, café e leite em pó. Além de serem utilizados na confecção de utensílios domésticos como baldes, bacias, banheiras infantis, brinquedos, assentos sanitários, caixa d'água, rótulos de refrigerantes e óleos, entre outros (BARÃO, 2011).

3.1.3 Policloreto de vinila (PVC)

O policloreto de vinila (PVC) ou vinil é o segundo termoplástico mais utilizado no mundo (CAO et al., 2016). De acordo com Balashova et al. (2014) a predominância do PVC se deve ao seu baixo custo, resistência biológica e química, facilidade de esterilização, transparência, leveza e flexibilidade (quando são utilizados plastificantes). Alguns dos usos comuns são em filmes *stretch* para embalagens de alimentos, garrafa de água, na maior parte de tubos de água e esgoto, cabos elétricos, revestimento de vinil, folhas de vinil e filmes, roupas de todos os tipos e aplicações médicas, como tubos intravenosos e cateteres (BALASHOVA et al., 2014).

A obtenção do PVC se dá pela polimerização por emulsão ou suspensão do cloreto de vinila (BARÃO, 2011). O polímero em sua composição pura é muito rígido, impossibilitando sua utilização na fabricação de embalagens, que requerem um material mais flexível. Para promover a flexibilidade, plastificantes são adicionados ao PVC como, por exemplo, os biftalatos e o BPA (BERNARD et al., 2017).

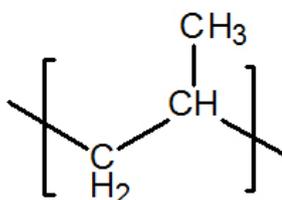
Habitualmente o PVC é utilizado na proteção de carnes estocadas, evitando a perda de peso e a descoloração, melhorando, assim a qualidade do alimento. As

carnes acondicionadas com filmes PVC mantêm sua cor vermelha brilhante, devido a permeabilidade do filme (SARANTÓPOULOS, 2001).

3.1.4 Polipropileno (PP)

O polipropileno (PP) foi primeiramente polimerizado em 1955 por Natta, e desde então tem sido reconhecido por ser um bom material polimérico, sua estrutura química está ilustrada na Figura 4. A razão disto é a sua versatilidade de projeto a nível molecular (HAMADA et al., 2000). Ele é um termoplástico, não transparente, exceto na forma de filme, quando amassado adquire uma coloração branca ou prateada. Os primeiros PP sintetizados apresentavam natureza amorfa (atática). Só então, após a descoberta dos catalizadores estéreo-específicos é que se conseguiu produzir estrutura cristalina, tipo isotática e sindiotática (JORGE, 2013).

Figura 4. Estrutura química do Polipropileno.



Fonte: Harper (2000)

O PP é usado, principalmente, nas embalagens de produtos desidratados e alimentos gordurosos, como batata frita e salgadinhos, por apresentar alta barreira ao vapor e gases. Os biscoitos também são acondicionados em embalagens de PP, devido a sua boa aparência e alto brilho, fatores que fazem o material adequado para alimentos que querem um atrativo a mais para a compra (CABRAL et al., 1984). Tancrez et al. (1994) afirmaram que o PP é um material largamente utilizado na indústria, em virtude de suas inúmeras qualidades como: facilidade de produção, boas características mecânicas, devido, em grande parte, à sua natureza semicristalina e inércia química, sendo possível sua aplicação mesmo em meios corrosivos.

3.1.5 Poliestireno (PS)

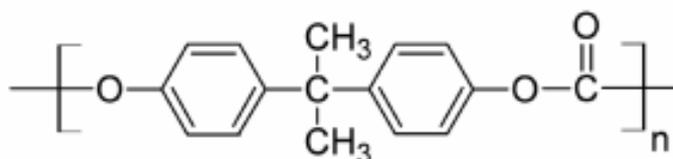
O poliestireno (PS) foi nos anos 1990 um dos termoplásticos mais consumidos, isso se deu principalmente a fatores como baixo custo, menor peso e boas propriedades elétricas (como baixa condutibilidade elétrica), transparência, alto brilho e boa resistência a alguns ácidos fortes (CORAZZA, 1995).

Ele é obtido pela reação do benzeno com o gás etileno (JORGE, 2013). Apresenta baixo ponto de fusão (88°C), o que o torna não indicado para acondicionar alimentos quentes. É um plástico muito quebradiço quando puro. Modificações químicas ou físicas são obtidas pela incorporação de borracha sintéticas (BORRELLY, 2002). Devido a suas características de proteção ao conteúdo, as embalagens de poliestireno podem ser usadas para acondicionar ovos, frutas e chocolates (BARÃO, 2011).

3.1.6 Policarbonatos (PC)

A primeira produção comercial de policarbonato (PC) foi realizada em 1958 pela GE/Bayer na Alemanha (MONTAGNER, 2010). O PC é um poliéster linear do ácido carbônico, sendo o mais simples dos poliésteres como podemos observar na Figura 5.

Figura 5. Estrutura química do policarbonato



Fonte: Bernardo (2015)

Ele é obtido por meio de uma reação de transesterificação entre um composto aromático hidroxilado (o BPA) e carbonato de difenila ou cloreto de carbonila (BERNARDO, 2015). No entanto, a maioria dos PCs comerciais é produzido pela reação do BPA com cloreto de carbonila, empregando um processo interfacial, por ter menor custo do que o processo por transesterificação (JORGE, 2013).

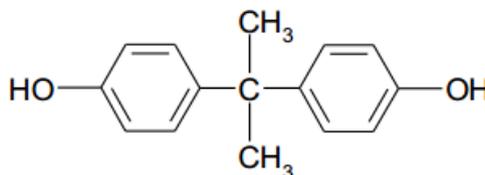
A presença do carbonato na estrutura do PC o torna um plástico mais rígido e durável, enquanto o BPA contribui para a elevada estabilidade térmica. O PC tem uma excelente combinação de resistência a altas temperaturas, elevada resistência ao choque e transparência, conservando suas propriedades com o aumento da temperatura (ENCARNAÇÃO, 2007). Devido às boas características o PC é utilizado em diferentes aplicações, como por exemplo, nas embalagens para alimentos, os meios ópticos, como DVD's, eletrodomésticos, automóvel, construção civil e na eletrônica (PEDERSEN et al., 2015).

O BPA é um composto orgânico com inúmeras características que o tornam um importante ingrediente na produção de certos materiais plásticos como o PC (MIKOLAJEWSKA; STRAGIEROWICZ; GROMADZINSKA, 2014). Mas o seu uso deve ser feito com cautela devido a seus efeitos prejudiciais à saúde humana.

3.2 BISFENOL A (BPA)

O Bisfenol A foi sintetizado pela primeira vez pelo russo Aleksandr Dianin no final do século XIX sintetizou pela primeira vez o 4,4'- (propano-2,2-diil) difenol, (BPA), que ficou conhecido como composto de Dianin (CARNEIRO, 2016). O BPA é um composto orgânico formado por dois anéis fenólicos ligados por uma ponte dimetil, com dois grupos funcionais metil ligados a ponte, como pode ser observado na Figura 6 (BERNARDO, 2015).

Figura 6. Estrutura química do BPA



Fonte: Montagner (2010)

Ele pode ser produzido por dois métodos diferentes: o primeiro pela condensação do fenol com acetona em meio ácido, alta temperatura e em presença de catalisadores, posteriormente ele é purificado por destilação, filtração e secagem. Já o segundo método de produção é bastante similar ao primeiro, diferenciando nas

tecnologias de catálise e purificação empregada, permitindo maior economia de reagentes (MIKOLAJEWSKA et al. 2014).

Em condições ambientais, o BPA é sólido de coloração branca, comercializado na forma de cristais, flocos ou pastilhas. Na Tabela 1 são mostradas as principais propriedades físico-químicas do BPA.

Tabela 1. Propriedades Físico-Químicas do BPA

PROPRIEDADE	VALOR
Massa molar	228 g mol ⁻¹
Fórmula molecular	C ₁₅ H ₁₆ O ₂
Densidade	1,195 g cm ⁻³
Ponto de ebulição	398°C (760 mm/Hg)
Ponto de fusão	155°C
pKa	9,59 – 11,30
Solubilidade em água	300 mg L ⁻¹
Pressão de vapor	5,3 x 10 ⁻⁶ KPa (25°C)

Fonte: Carneiro (2016)

A solubilidade do BPA em água é mencionada por diversos autores, mas apresenta valores distintos entre si. Os valores encontrados variam de 120 a 300 mg L⁻¹ a 25°C, e da mesma forma, são citados diferentes valores para a pressão de vapor, densidade e pKa, todavia a maior variação entre os resultados pode ser observada na determinação da pressão de vapor, propriedade esta que classifica o BPA como um composto de baixa volatilidade (STAPLES et al.; 1998).

O BPA é amplamente empregado como um intermediário de inúmeros processos de manufaturas industriais como na produção de PC, misturas PC, resinas epóxi, retardantes de chama, resinas de poliésteres e vários tipos de papéis térmicos para cópias sem carbono (PEDERSEN et al., 2015).

A produção mundial de BPA foi estimada em 1,1 milhões de toneladas por ano em 1993 e 1,6 milhões de toneladas por ano em 1996 (MONTAGNER, 2010). Atualmente a estimativa de produção total mundial do BPA é de aproximadamente 6 milhões de toneladas por ano, um aumento de mais de 70% (BERNARDO; NAVAS; MURATA; ALCÂNTRA, 2015). Uma grande demanda no uso do BPA e sua aplicação generalizada na indústria de plásticos, ele apresenta um potencial risco para a saúde humana (ROCHA; BARBOSA, 2014). Segundo estudo publicado por

Mikolajewska et al. (2014), o BPA pode ser facilmente libertado do produto polimérico, no qual está presente e migra para o ambiente. A ligação éster ligando as moléculas de BPA em PC ou resinas epóxi são hidrolisadas durante o aquecimento ou em meio ácido e alcalino. Como consequência, o BPA é liberado e acaba migrando para os alimentos. Além disso, a migração é reforçada pela repetida lavagem com detergentes, fricção e esterilização.

3.2.1 Efeito do BPA na saúde humana

De acordo com o relatório da Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO) e a Organização Mundial da Saúde (WHO), ambas de 2011, foi publicado um grande número de estudos sobre a toxicidade e a atividade hormonal do BPA em animais de laboratório. Houve uma considerável divergência nos resultados entre esses estudos, tanto no que diz respeito à natureza dos efeitos observados como aos níveis em que ocorreram. Isso levou a controvérsias dentro da comunidade científica sobre a segurança do BPA e levou vários países a estabelecerem medidas diferentes no gerenciamento de riscos. Países como a Dinamarca, Canadá e França desde 2010 invocaram o princípio de prevenção e proibiram a utilização de BPA em materiais que estão em contato com alimentos de crianças de 0 a 3 anos, como em mamadeiras, copos e embalagens de alimentos (WHO; FAO, 2010).

No Brasil a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) por meio da RDC nº 56, de 16 de novembro de 2012, estabeleceu a proibição do uso do BPA em mamadeiras e artigos similares destinados à alimentação de lactentes (crianças menores que doze meses de idade), além de determinar o limite de migração específica BPA para os alimentos em $0,6 \text{ mg Kg}^{-1}$.

Segundo a Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (USEPA) de 2010 o BPA é classificado como um desregulador endócrino (DE), ou seja, uma substância exógena capaz de assumir ou coibir a função de hormônios naturais nos seres vivos, dessa forma alterando suas funções do sistema endócrino/hormonal e, em consequência, prejudicando a saúde humana (ROCHESTER, 2013). Ainda, segundo a USEPA um DE interfere na síntese, secreção, transporte, ligação, ação ou eliminação de hormônios naturais responsáveis pela manutenção da homeostase, desenvolvimento e/ou comportamento e reprodução (WHO; FAO,

2010). A atividade estrogênica do BPA vem sendo reportada desde 1993 por Krishnan et al. (1993).

O BPA mesmo em baixas concentrações pode promover uma série de efeitos adversos tais como a multiplicação de células de câncer de mama, hiperprolactinemia e a proliferação de células do útero e da vagina além da diminuição do tamanho da próstata, testículos, epidídimo e vesícula seminal, e ainda, na redução dos níveis de testosterona e a contagem de espermatozoides (ROCHESTER, 2013). Estudos *in vitro* demonstraram efeitos do BPA na interrupção da ação hormonal da tireóide (GÓMEZ; RUBIO; BENDITO, 2009).

Em experimentos com fêmeas adultas de ratos, realizado por Seta et al. (2005), observou-se que a exposição por um bom tempo a baixas concentrações de BPA, durante o período de gestação e de amamentação, gerou alteração em seu comportamento maternal e sexual como a redução no tempo gasto para amamentação dos filhotes e o aumento no tempo fora do ninho. Além de mudanças comportamentais o contato com BPA no período de lactação induziu decréscimo das células α -receptoras de estrogênio.

O relatório da FAO (2010) destaca que o BPA pode ter atividade estrogênica, mas não deve ser considerada como atuante apenas como um estrogênio ou mesmo um modulador seletivo do receptor de estrogênio. Dependendo do sistema estudado e da dose, o BPA pode exercer especificidades celulares pleiotrópicas e teciduais, além de existir relação dose-resposta.

Considerando que o BPA normalmente se encontra em concentrações baixas nas amostras ($\mu\text{g L}^{-1}$), é fundamental que os métodos analíticos sejam suficientemente detectáveis para alcançar baixos LOD. Além disso, a etapa de preparo da amostra é crucial para eficiência de uma análise química, principalmente nestes casos em que a espécie química de importância se encontra em baixas concentrações. Segundo Kawaguchi et al. (2004), o número de trabalhos a respeito dos efeitos do BPA na saúde e no meio ambiente bem como métodos analíticos para diferentes matrizes vem aumentando gradativamente nos últimos anos. Trabalhos de análise de BPA em alimentos, amostras biológicas, amostras ambientais, garrafas de polícarbonato, mamadeiras, selante dentário e embalagens plásticas são descritos na literatura empregando diversos procedimentos de extração e técnicas de detecção.

3.2.2 Técnicas de Extração de BPA

As técnicas de extração de BPA de resíduos contaminantes ambientais, e em matrizes aquosa, necessitam de uma etapa de preparação das amostras, essa é uma etapa crítica do processo analítico e tem sido um dos principais obstáculos para obtenção de resultados adequados em termos de precisão e detecção (MARTINS et al., 2012). Geralmente a primeira etapa é a de extração e de pré-concentração da espécie de interesse para torná-la compatível com o sistema analítico a ser utilizado, além de minimizar ou eliminar efeitos da matriz e melhorar os LODs antes de quantificá-la (MOREIRA; YOKOYA; GAITANI, 2014).

Entre as técnicas tradicionais de preparo da amostra existe a extração líquido-líquido (LLE – *liquid-liquid extraction*), largamente aceita e utilizada como técnica de preparo de amostra para análise de agrotóxicos em água e alimentos e também fármacos em fluídos biológicos (CALDAS et al., 2011). A LLE é um procedimento básico de separação de compostos com diferentes características de solubilidade (FACCHIN; PASQUINI, 1998). Apesar de apresentar uma alta reprodutibilidade a LLE possui algumas desvantagens, ela demanda tempo e trabalho laboratorial intenso, além de propensão à formação de emulsão, baixo potencial a automação e uso de grande volume de solventes de alta pureza, aumentando o custo e o consumo de solventes com potencial tóxico (ESRAFILI; YAMINI; SHARIATI, 2007).

Segundo Moreira et al., (2014) a busca para contornar essas desvantagens na última década, levou ao desenvolvimento de novas técnicas que demandam menos tempo, consomem quantidades reduzidas de reagentes e são mais eficientes. Ainda segundo Moreira et al. (2014) o desenvolvimento dessas técnicas seguiu o enfoque na química verde. A tendência de miniaturização da LLE, reduziu significativamente a proporção entre o volume do solvente e o volume da fase aquosa. A microextração em fase líquida (LPME – *liquid phase microextraction*) e a microextração em gota suspensa (SDME – *single drop microextraction*) desenvolvidas por Jeannot e Cantwell em 1996 (JEANNOT, 1996), surgiram com o objetivo de reduzir a razão volumétrica entre as fases e favorecer a transferência dos analito da fase aquosa para a fase orgânica além de obter um elevado fator de enriquecimento (CARNEIRO, 2016). A SDME, por exemplo, utiliza uma gota de solvente orgânico para extrair eficientemente o analito das amostras aquosas. Existem ainda outros métodos alternativos, entre estes a microextração em fase

líquida com fibra oca (HF-LPME – *hollow fiber – liquid phase microextraction*), a extração sortiva em barra de agitação (SBSE – *stir bar sorptive extraction*) e a microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME – *dispersive liquid-liquid microextraction*).

3.3 MICROEXTRAÇÃO LÍQUIDO-LÍQUIDO DISPERSIVA (DLLME)

A DLLME foi desenvolvida em 2006 por Rezaee e colaboradores para a determinação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em amostras de água (REZAAE et al., 2006). A técnica se baseia no princípio da partição entre a fase doadora (amostra) e aceptora (solvente orgânico), onde a polaridade do analito é que determina sua solubilidade na fase aceptora.

A DLLME supera as técnicas convencionais de LPME, pois não necessita de um tempo longo para alcançar o estado de equilíbrio, gera um aumento da área de contato entre a amostra e o solvente extrator e com isso possui um elevada eficiência e altos fatores de enriquecimento se compara aos valores a LPME. Outras vantagens da DLLME é a rapidez, baixo custo, fácil manipulação, baixo consumo de solventes orgânicos e alta recuperação (CARNEIRO, 2016).

Segundo Moreira et al. (2014) o estado de equilíbrio é alcançado rapidamente, devido à utilização de um sistema ternário de solventes (amostra aquosa, solvente extrator e solvente dispersor), tornando a extração independente do tempo. E a razão entre o volume de fase aceptora e de fase doadora é da ordem de microlitros e mililitros, respectivamente, o que permite a obtenção de altos valores de enriquecimento.

Para demonstrar a eficiência da extração Moreira et al. (2014) utilizou parâmetros como o fator de enriquecimento (FE), que é definido como a razão entre a concentração do analito na fase sedimentada (C_{sed}) e a concentração inicial do analito (C_0) na amostra e pode ser calculada utilizando-se a Equação 1.

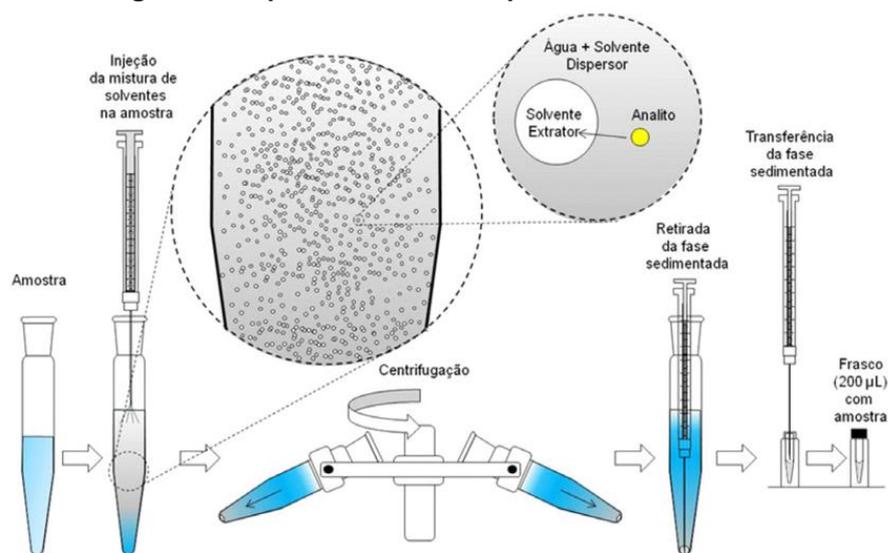
$$FE = \frac{C_{sed}}{C_0} \quad \text{Equação 1.}$$

Já a recuperação (R) foi definida como a quantidade da espécie de interesse, em porcentagem, que é transferida para a fase aceitadora ao final da extração e pode ser calculada por meio da Equação 2, onde V_{sed} e V_{aq} são os volumes da fase sedimentada e da amostra, respectivamente.

$$R = \frac{C_{sed} \times V_{sed}}{C_0 \times V_{aq}} \times 100 \quad \text{Equação 2}$$

Na DLLME, uma mistura apropriada de solvente (solvente extrator e solvente dispersor) é injetada rapidamente na amostra aquosa com o auxílio de uma microseringa. A injeção da mistura forma gotículas do solvente orgânico completamente disperso na fase aquosa, deixando a solução turva. Nesta etapa os analito são transferidos da fase aquosa para a fase extratora por partição. Após a centrifugação, as gotículas do solvente extrator se depositam no fundo do tubo e são retiradas com uma microseringa para a posterior análise (CARNEIRO, 2016; MOREIRA; YOKOYA; GAITANI, 2014). A DLLME é realizada em duas etapas: extração e separação das fases. As etapas do procedimento convencional de DLLME estão ilustradas na Figura 7 (CALDAS et al., 2011).

Figura 7. Etapas envolvidas no procedimento da DLLME



Fonte: Caldas et al., (2011)

Os solventes dispersores mais utilizados na técnica DLLME são geralmente metanol, acetonitrila, acetona, etanol e tetraidrofurano. Mas o volume adequado de

solvente dispersor para a formação das gotículas irá depender tanto do volume da fase aquosa quanto do volume do solvente extrator (ZHANG et al., 2015). O solvente dispersor deve atender a um requisito como ser solúvel tanto na fase doadora quanto na fase aceptora, a escolha correta do solvente dispersor irá afetar diretamente a eficiência de extração, pois favorece a dispersão do solvente extrator em forma de gotículas, aumentando a superfície de contato do solvente extrator com o analito (MOREIRA; YOKOYA; GAITANI, 2014).

O solvente extrator do mesmo modo que o solvente dispersor deve satisfazer algumas condições como ser imiscível na amostra, ter maior densidade e alta capacidade de extração (MOREIRA; YOKOYA; GAITANI, 2014). O solvente com maior densidade que a água e baixa solubilidade nesta, permitem a separação do extrato orgânico na fase sedimentada. Alguns solventes halogenados têm sido utilizados como solventes extratores, dentre os quais estão o clorofórmio, diclorometano, clorobenzeno e tetracloreto de carbono (PUSVASKIENE et al., 2009; MARTINS et al., 2015).

Trabalhos publicados por Caldas et al. (2011), Melwanki et al. (2009) e Moreira et al. (2014), demonstraram que a eficiência da extração por DLLME está diretamente ligada a fatores como solvente de extração, solvente de dispersão, volumes dos solventes de extração e dispersão, tempo de extração, força iônica e pH da amostra. Embora o equilíbrio de partição dos analitos entre a fase aquosa e orgânica seja atingido rapidamente, o tempo de extração é definido como o intervalo entre a injeção da mistura de solventes na amostra até o final da centrifugação (CALDAS et al., 2011).

Outro fator importante é a força iônica da amostra, com o aumento da concentração de NaCl também aumenta o volume da fase sedimentada, isso devido a diminuição da solubilidade dos compostos de interesse na fase aquosa e aumento na fase orgânica (REZAEI et al., 2009). O ajuste do pH da amostra também é um fator importante pois permite que o analito permaneça na forma neutra, facilitando a extração (MELWANKI et al., 2009), ele deve ser otimizado em função da acidez ou basicidade dos compostos, os ácidos normalmente requerem uma acidificação da amostra para se manterem na forma molecular e facilitar a partição dos analitos nas gotículas do solvente extrator (CALDAS et al., 2011).

A DLLME combinada com a HPLC, leva ao aumento da seletividade, sensibilidade, precisão e exatidão do método analítico (DIONÍSIO et al., 2010).

3.5 CROMATOGRRIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA (HPLC)

A Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC) teve seu início como técnica analítica em 1906 pelo botânico russo Mikhael Semenovich Tswett, quando ele descreveu a separação dos componentes de extrato de folhas (COLLINS; BRAGA; BONATO, 2006). No estudo o botânico conseguiu separar pigmentos de cloroplastos em folhas verdes de plantas usando uma coluna de vidro recheada de carbonato de cálcio como fase estacionária e éter de petróleo como fase móvel. A separação observada aconteceu em faixas coloridas, dando origem ao nome de cromatografia (*chrom* = cor e *grafie* = escrita).

Segundo Degani et al. (1998) o primeiro cromatógrafo líquido de uso prático foi construído por Csaka Horvath na Universidade de Yale em 1964, sendo que ele operava em pressões de até 1000 psi (6879 kPa ou 6897 bar), fase móvel em água tamponada passando por colunas de 1 mm de diâmetro interno e com detector de ultravioleta, com novas tecnologias foi possível produzir partículas da fase estacionária de diâmetro da ordem de 3 a 10 μm , que fossem capazes de gerar colunas mais seletivas, eficientes e estáveis química e mecanicamente, permitindo assim a fabricação de equipamentos sofisticados que trabalhassem a alta pressão, ao contrário do que acontecia com as colunas de vidro simples da cromatografia líquida clássica, em que a eluição da fase líquida era devido somente a ação da gravidade (MALDANER; JARDIM, 2009).

A Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC) é uma técnica de separação que se baseia na migração diferencial dos componentes de uma mistura, o que ocorre devido a uma diferença na interação entre duas fases imiscíveis, sendo uma fase fixa que possui grande área superficial chamada fase estacionária, e a outra um fluído que se move através da fase estacionária em direção ao detector, sendo essa fase chamada de fase móvel (LANÇAS, 1993; DEGANI; CASS; VIEIRA, 1998).

Os detectores cromatográficos estão conectados logo após a coluna cromatográfica, os analito ao passarem pela coluna tem contato com o detector emitindo assim uma resposta que é transmitida para um computador. Por esses registros, podem-se obter dados quantitativos e qualitativos sobre o analito de interesse presente na amostra. Atualmente existem vários tipos de detectores (UV-

visível), fluorescência, índice de refração, eletroquímico, condutimétrico e espectrômetro de massas), sendo a escolha dependente das características químicas ou físicas do analito a ser detectado (CARNEIRO, 2016). Para a determinação de BPA o método de Cromatografia Gasosa Acoplada a Espectrometria de Massas (GC/MS) é o mais comumente utilizado embora existam muitas publicações que utilizam o HPLC onde o BPA pode ser detectado com detectores UV, fluorescência (FLU) e detecção eletroquímica (ECD) devido aos dois grupos hidroxila-fenólicos presentes na estrutura (AZEVEDO et al., 2001; YOON et al., 2003; HERNANDO et al., 2004; LEANDRO et al., 2006).

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 INSTRUMENTAÇÃO

Balança analítica Mark 2054 (BEL, Itália) com resolução de 0,0001 g, foi utilizada para a pesagem do BPA. Após serem submetidas a extração todas as amostras foram centrifugadas em centrífuga (LAB1000 ADAMO, Brasil). Todas as medidas foram realizadas em Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência, YL9100 HPLC System (YOUNG LIN, Korea) equipado com bomba de vácuo. A separação foi realizada em coluna luna 5 μ C18 (150 x 4,6 mm). Utilizando como fase móvel uma mistura de água e acetonitrila (50:50 v/v) a um fluxo de 1 mL min⁻¹ no modo de eluição isocrático. O volume de injeção da amostra foi de 20 μ L e a detecção realizada em detector de UV no comprimento de onda de 224 nm.

4.2 MATERIAIS E REAGENTES

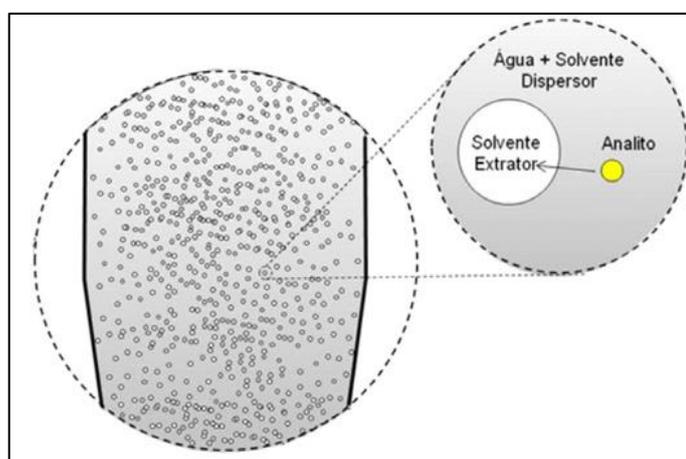
Todos os reagentes utilizados foram de grau analítico. Água ultrapura com resistividade 18,1 M Ω cm, purificada em purificador (GEHAKA Master All 2000 system, Brasil) foi empregada para preparação dos padrões. Bisfenol A (ALDRICH, EUA, 95%) foi empregue como padrão cromatográfico. A solução padrão foi preparada na concentração de 250 mg L⁻¹ em água ultrapura para posterior utilização no teste de recuperação e para as curvas analíticas. Acetona (SIGMA, Brasil) foi empregada como solvente dispersor e clorofórmio (PROQUÍMIOS, Brasil) como solvente extrator. O efeito da força iônica, foi avaliado com uso de cloreto de sódio (NEON, Brasil) e para ajuste de pH das soluções foram utilizadas soluções de ácido nítrico (SIGMA, Brasil) e hidróxido de sódio (DINÂMICA, Brasil). Acetonitrila (PANREAC APPLICHEM, Alemanha) foi empregue como fase móvel na separação cromatográfica por HPLC. Todas as amostras foram adquiridas em uma empresa de água mineral e no comércio local de Ponta Grossa – PR.

4.3 MÉTODOS ANALÍTICOS

4.3.1 Microextração líquido-líquido dispersiva

Uma alíquota de 5 mL de amostra foi diretamente pipetada para tubos de vidro com fundo cônico, e com o auxílio de uma microseringa injetou-se rapidamente 1000 μ L da mistura de extrator/dispersor, contendo 200 e 800 μ L clorofórmio e acetona respectivamente, como apresentado na Figura 8.

Figura 8. Formação do sistema ternário após injeção da mistura extrator/dispersor na amostra



Fonte: Caldas et al., (2011)

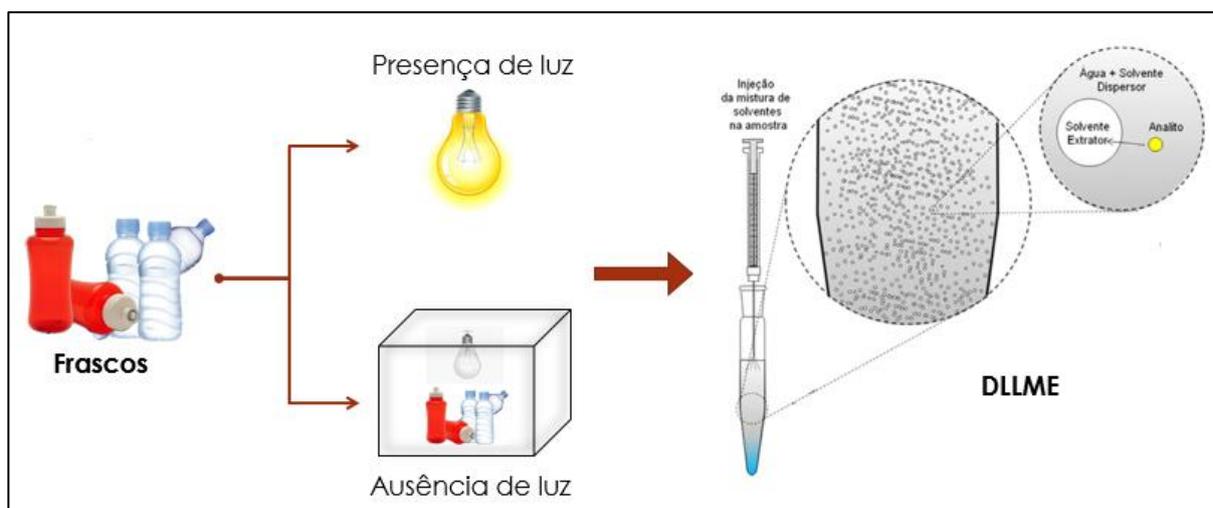
A mistura foi centrifugada a 3000 rpm por 5 minutos. Posteriormente a centrifugação, as gotículas do solvente extrator depositados no fundo do tubo contendo o BPA, foram retiradas com o auxílio de uma microseringa. Depois foram transferidas para vials até a completa evaporação do solvente extrator. Na etapa seguinte o conteúdo depositado foi solubilizado com 100 μ L da fase móvel e analisado por HPLC. Todas as medidas foram realizadas em triplicatas e expressas como média \pm desvio padrão.

4.3.2 Migração de BPA em amostras de água

Após a definição do método analítico, testes complementares foram realizados para a avaliação da migração de BPA do material polimérico para água.

Os *esqueze* A e B foram completados com água destilada e ambos armazenados em diferentes condições, como ilustrado na Figura 9. Na primeira avaliação os frascos foram acondicionados em um local com presença de luz ($25\pm 3^{\circ}\text{C}$), alíquotas foram retiradas após 1, 24 e 600 horas de contato. No segundo teste, os frascos foram acondicionados em um local escuro ($25\pm 3^{\circ}\text{C}$) e retirado alíquotas no mesmo intervalo de tempo citado anteriormente.

Figura 9. Avaliação da migração de BPA em presença e ausência de luz



Fonte: Adaptado de Caldas et al., (2011).

A concentração de BPA foi determinada seguindo a mesma metodologia descrita anteriormente.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

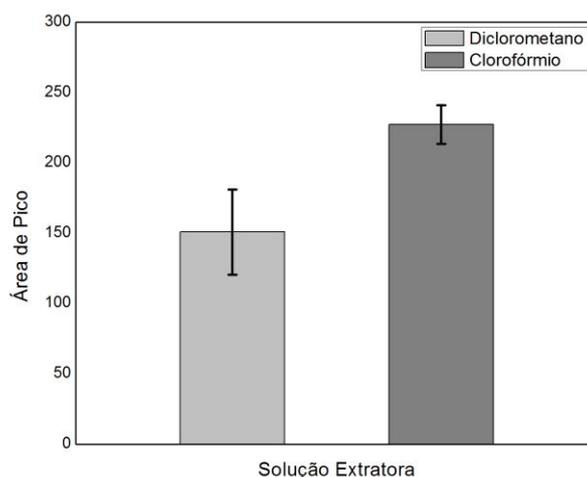
5.1 OTIMIZAÇÕES PARA DLLME

Existem diferentes parâmetros que afetam o processo de extração na DLLME. Entre estes estão o tipo e volume da solução dispersora e extratora, força iônica e pH do meio. Com a finalidade de aumentar a eficiência de extração e pré-concentração de BPA, esses parâmetros foram otimizados utilizando uma solução estoque de BPA de 250 mg L⁻¹.

5.2 SELEÇÃO DO SOLVENTE EXTRATOR

O tipo de solvente extrator a ser utilizado na DLLME configura um dos principais parâmetros para se conquistar sucesso na determinação analítica. Fatores como a densidade do solvente, a capacidade de extração do analito e a compatibilidade com a técnica analítica a ser utilizada, devem ser considerados para a escolha do solvente extrator (MOREIRA, et al., 2012; ZANG, et al., 2009). A eficiência de diferentes solventes extratores foi avaliada para extração de BPA por DLLME e os resultados estão apresentados na Figura 8. Diclorometano e clorofórmio foram avaliados como possíveis solventes extratores para DLLME visando à determinação de BPA em amostras de água.

Figura 8. Eficiência de diferentes solventes extratores avaliados para extração de BPA por DLLME. Condições experimentais: 5 mL de amostra, 5 minutos em centrifuga a 3000 rpm, 1000 µL de mistura de extrator (200 µL) e dispersor (800 µL acetona).



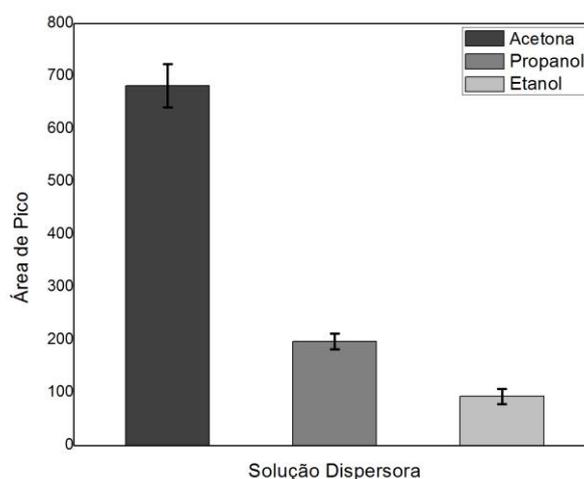
Fonte: Autoria própria (2017)

O estudo foi realizado utilizando 800 μL de acetona contendo 200 μL do solvente extrator. Conforme observado, o clorofórmio apresentou uma maior eficiência de extração e pré-concentração de BPA. De acordo com Rezaee et al. (2009), isso se justifica devido ao BPA possuir uma maior solubilidade no clorofórmio em comparação com ao diclorometano, sendo este o solvente selecionado para as análises posteriores.

5.3 TIPO DO SOLVENTE DISPERSOR

O solvente dispersor é responsável pela formação do sistema ternário onde ocorre a extração do analito, desta maneira a escolha deste solvente é decisiva para a eficiência da DLLME. O solvente dispersor deve ser miscível tanto no solvente extrator como na amostra para proporcionar a formação de microgotas e conseqüentemente à transferência do analito da amostra para o solvente extrator (ANTHEMIDIS; IOANNOU, 2009). Foram testados como possíveis solventes dispersores acetona, propanol e etanol, os resultados obtidos estão apresentados na Figura 9.

Figura 9. Eficiência de diferentes solventes dispersores avaliados para extração de BPA por DLLME. Condições experimentais: 5 mL de amostra, 5 minutos em centrifuga a 3000 rpm, 1000 μL de mistura extratora (200 μL clorofórmio) e dispersor (800 μL acetona)



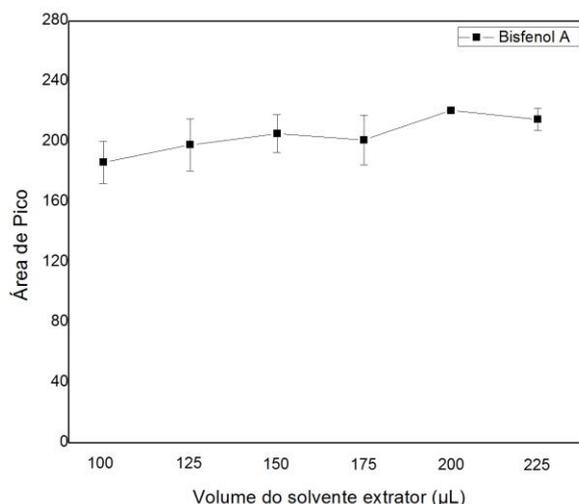
Fonte: Autoria própria (2017)

Conforme pode ser observado, a maior eficiência foi obtida utilizando acetona como solvente dispersor. Isso é devido a sua maior compatibilidade com a acetona do que com os outros solventes. Sendo assim, a acetona foi selecionada para as determinações.

5.4 OTIMIZAÇÃO DO VOLUME DA SOLUÇÃO EXTRATORA

O volume de solvente extrator pode influenciar no volume de fase sedimentada, assim é de extrema importância a otimização do volume de solvente extrator a ser utilizado (REZAEI, et al., 2009). Para avaliar o efeito do volume do solvente extrator na pré-concentração, foram utilizadas soluções que continham diferentes volumes de clorofórmio como apresentado na Figura 10. Os volumes variaram de 100 a 225 μL , deste modo foi averiguado qual o volume ideal de solvente extrator para extração do BPA por DLLME.

Figura 10. Avaliação dos diferentes volumes do solvente extrator na extração e pré-concentração de BPA por DLLME. Condições experimentais: 5 mL de amostra, 5 minutos em centrifuga a 3000 rpm, 1000 μL de mistura extratora clorofórmio e acetona.



Fonte: Autoria própria (2017)

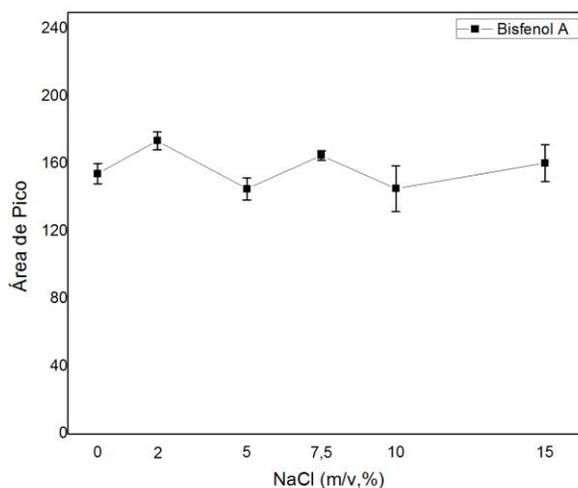
Conforme verificado a medida que há um aumento do volume do solvente extrator, existe um aumento gradativo na área de pico até 200 μL , para os volumes de 100, 125, 150 e 175 μL não foi observado uma diferença significativa. Os resultados permitiram identificar que a maior eficiência de extração e pré-

concentração de BPA foi alcançada a partir do volume de 200 μL , assim este volume foi adotado nas determinações posteriores.

5.5 EFEITO DA FORÇA IÔNICA

A força iônica pode interferir drasticamente na eficiência da DLLME, pois afeta a solubilidade do solvente extrator e assim o volume de fase sedimentada, e consequentemente a capacidade de extração e pré-concentração do analito (MARTINS, et al., 2012). A adição de sais acarreta na diminuição da solubilidade de compostos solúveis em água, facilitando a partição do analito no solvente orgânico, efeito conhecido como *salting out* (HEY, JACKSON, YAN, 2005). A Figura 11 apresenta os resultados obtidos para a avaliação do efeito da força iônica.

Figura 11: Avaliação do efeito da força iônica na extração e pré-concentração de BPA por DLLME. Condições experimentais: 5 mL de amostra, 5 minutos em centrifuga a 3000 rpm, 1000 μL de mistura extratora clorofórmio (200 μL) e acetona (800 μL).



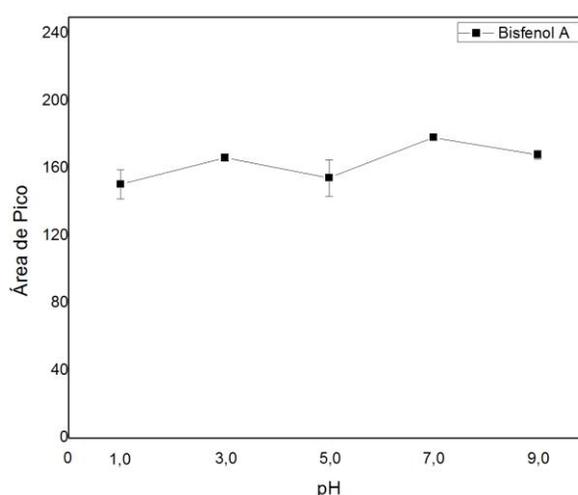
Fonte: Autoria própria (2017)

O efeito força iônica do meio na extração de BPA por DLLME, foi avaliado com concentrações de NaCl na faixa de 0 – 15% (m/v). Os resultados não variaram significativamente, mas demonstraram uma eficiência de extração levemente maior quando a concentração de 2% (m/v) de NaCl foi utilizada, sendo esta condição selecionada para as determinações posteriores

5.6 EFEITO DO pH

O efeito do pH também pode exercer influência sobre a efetividade da DLLME dependendo das características dos compostos presentes na amostra, que muitas vezes precisam estar na forma neutra para facilitar a partição dos analitos nas microgotas do solvente extrator (CALDAS et al., 2011) Os resultados obtidos estão apresentados na Figura 12.

Figura 12: Avaliação do efeito do pH na extração e pré-concentração de BPA por DLLME. Condições experimentais: 5 mL de amostra, NaCl 2% m/v, 5 minutos em centrifuga a 3000 rpm, 1000 μ L de mistura extratora clorofórmio (200 μ L) e acetona (800 μ L).



Fonte: Autoria própria (2017)

O efeito do pH foi avaliado na faixa entre 1,0 e 9,0. Os resultados indicaram que não houve uma diferença significativa na eficiência da extração de BPA por DLLME. Também em estudos realizados por Haeri (2016), para extração de BPA em água, o desempenho de extração no intervalo de pH de 2,0 – 9,0 não teve grandes diferenças. Desse modo se optou em utilizar o pH 7,0, sendo este mais próximo da condição natural das amostras.

As condições ótimas para extração e pré-concentração de BPA em amostras de água por DLLME, foram: 5 mL de amostra em pH 7 com 2% (m/v) de NaCl, com adição de 1000 μ L de solução extratora (contendo 200 μ L de clorofórmio e 800 μ L de acetona) seguidas de centrifugação a 3000 rpm por 5 minutos e separação da fase sedimentada para determinação por HPLC.

5.7 PARÂMETROS DE MÉRITO

Utilizando as condições ótimas, foram obtidas as figuras de mérito para determinação BPA em amostras de água por DLLME, e os valores obtidos estão apresentados na Tabela 2. A faixa de calibração adotada para BPA ficou entre 5-200 $\mu\text{g L}^{-1}$ com um coeficiente de correlação (R^2) de 0,998. O desvio padrão relativo se apresentou entre 1,8% e 6,7%, o que confirma a boa precisão do método proposto. O fator de enriquecimento (FE) indicou a boa capacidade de pré-concentração do analito, sendo o valor obtido para FE com o método proposto foi 18. Este valor de FE é bastante satisfatório tratando-se da concentração de BPA em águas. Também os valores de teste de recuperação entre 91% e 95% mostraram boa exatidão do método proposto.

Tabela 2. Parâmetros de mérito para determinação de BPA em amostras de água usando a microextração líquido-líquido dispersiva com posterior análise em HPLC.

Parâmetros	DLLME
Faixa Linear ($\mu\text{g L}^{-1}$)	5 – 200
R^2	0,998
LOD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	1,3
LOQ ($\mu\text{g L}^{-1}$)	4,4
RSD (% $,n=5$)	1,8 – 6.7
Fator de Enriquecimento	18
Teste de Recuperação (%)	91 – 95

Fonte: Autoria própria (2017)

Por meio do valor de LOD na ordem de $\mu\text{g L}^{-1}$ se pode perceber o elevado poder de detecção do método proposto. Uma comparação dos valores de LOD entre o método proposto e os obtidos por diferentes metodologias para determinação de BPA em amostras de água é apresentado na Tabela 3.

Tabela 3. Trabalhos sobre a determinação de BPA em amostras de águas.

Matriz	Preparo de amostras	Comentários	Técnica	LOD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Referencia
Água superficial e água da torneira	DLLME	Clorofórmio (extrator) e acetona (dispersor)	HPLC-UV	0,07	Rezaee, et al. (2006)
Água do mar	IL-LLME	Uso de CTAB para a extração micelar assistida por micro-ondas	HPLC-DAD	4,6	Delgado et al. (2012)
Água do mar	SDME	Decanol como extrator	HPLC-UV	50	López-Darias, et al. (2010)
Água mineral	DLLME	Clorofórmio (extrator) e acetona (dispersor)	HPLC-UV	1,3	Presente trabalho

Fonte: Autoria própria (2017)

Conforme verificado o método proposto apresenta um valor de LOD menor ao obtido por Delgado et al. (2012) no qual ocorreu a utilização da IL-LLME, para a determinação de BPA em amostras de água do mar por HPLC-DAD gerando um valor de LOD de $4,6 \mu\text{g L}^{-1}$. Já quando comparado ao trabalho de López-Darias, et al. (2010) com a utilização de SDME para a determinação de BPA em amostras de água do mar por HPLC-UV o método proposto é significativamente mais sensível. Entretanto, quando comparado ao trabalho de Rezaee, et al. (2006), que também usou DLLME, o LOD obtido para BPA pelo método proposto foi cerca de duas vezes superior ao obtido pelos autores ($0,07 \mu\text{g L}^{-1}$).

5.8 MIGRAÇÃO DE BPA

A DLLME foi aplicada para a determinação de BPA em amostras de água provenientes em garrafas de água mineral comerciais natural e gaseificada de 500 mL. Além disso, para avaliar a possível migração de BPA de recipientes plásticos para a água, amostras de água armazenadas em garrafas tipo *squezee*, sendo o *squezee A* fabricado em PP e o *squezee B* em PC. Neste teste, ambos *squezees* foram preenchidos com água destilada, armazenados em local escuro ($25 \pm 3 \text{ }^\circ\text{C}$). Alíquotas foram retiradas após 1, 24 e 600 horas de contato. Já para as garrafas de

água mineral, fabricadas em PP, foram analisadas duas marcas, sendo destas amostras uma natural e outra gaseificada. Após a coleta das amostras foi realizada a DLLME, a fase contendo o analito foi mantida em capela para eliminação do excesso de clorofórmio, na etapa seguinte o resíduo foi solubilizado em 100 μL da fase móvel (água:acetonitrila, 50:50 v/v) e injetados (20 μL) no HPLC para a determinação do BPA. Os resultados obtidos para a análise de migração do BPA em garrafas *squeezee* estão reunidos na Tabela 4, onde podemos verificar que houve uma variação de 4,36 – 6,65 $\mu\text{g L}^{-1}$ demonstrando que não houve uma migração significativa no período estudado, além disso, os valores obtidos estão abaixo do limite máximo estabelecido para BPA pela legislação brasileira.

Tabela 4. Concentração de BPA ($\mu\text{g L}^{-1}$) obtidas após extração por DLLME e posterior determinação por HPLC em diferentes tempos de exposição à embalagem. * médias de duas replicatas, ** Embalagem informava "livre de BPA".

Amostras	BPA ($\mu\text{g L}^{-1}$)		
	1 hora	24 horas	600 horas
** <i>Squeeze A</i>	5,98*	4,36*	6,39 \pm 0,41
<i>Squeeze B</i>	5,26*	4,47*	6,65 \pm 0,32

Fonte: Autoria própria (2017)

Adicionalmente, testes de abrasão foram realizados nas garrafas *squeezee* com o intuito de avaliar se poderia ocorrer uma maior migração de BPA do material plástico para a água. Para esse teste, a lavagem dos frascos foi realizada com o auxílio de uma esponja, riscando intencionalmente as garrafas, posteriormente 700 mL de água ultrapura foram armazenados. Então, alíquotas foram retiradas em tempos determinados e a concentração de BPA determinada, seguindo a mesma metodologia descrita anteriormente. Entretanto, os resultados obtidos indicaram que, mesmo nestas condições, não houve um aumento da migração de BPA. Os resultados obtidos para as análises realizadas na água mineral natural e gaseificada comerciais estão demonstrados na Tabela 5.

Conforme pode ser observado, apenas para a amostra A, natural, os resultados ficaram abaixo do LOD, na amostra A gaseificada e para as amostras B natural e gaseificada os resultados obtidos ficaram muito próximos, variando de 5,32

– 6,48 $\mu\text{g L}^{-1}$. Estes valores estão abaixo do limite máximo estabelecido para BPA pela legislação brasileira (0,6 mg L^{-1}).

Tabela 5. Concentração de BPA ($\mu\text{g L}^{-1}$) obtidas após extração por DLLME e posterior determinação por HPLC. Amostras de água mineral adquiridas no comércio local em garrafas de 500 mL.

Amostras	BPA ($\mu\text{g L}^{-1}$)	
	Sem gás	Com gás
Água mineral A	< 1,3	5,70 \pm 0,38
Água mineral B	5,32 \pm 0,25	6,48 \pm 0,12

Fonte: Autoria própria (2017)

Nas condições avaliadas para os *esqueezes* e água mineral comercial não foi possível observar migração de BPA em concentrações significativas, uma vez que as concentrações de BPA são muito menores do que os limites estabelecidos pela legislação brasileira. Contudo, existem casos descritos na literatura onde o recipiente após ser submetido a aquecimento demonstrou uma migração significativa de BPA. Errico et al. (2014), confirmou a migração de BPA de revestimentos epóxi em produtos de tomate. A exposição de latas em temperaturas de 45°C aumentou a concentração de 5 $\mu\text{g/Kg}$ para aproximadamente 35 $\mu\text{g/Kg}$. Desse modo, são necessários estudos mais completos com um número maior de marcas e embalagens de diferentes polímeros, para garantir a segurança alimentar e a qualidade dos produtos para o consumidor final.

6 CONCLUSÃO

A metodologia proposta para determinação de BPA em amostras de água por HPLC, após procedimento de extração e pré-concentração por DLLME mostrou ser rápida e eficiente, além de apresentar uma boa detectabilidade.

O clorofórmio (200 μL) e a acetona (800 μL) foram utilizados como solventes extratores e dispersores, respectivamente. Outros parâmetros otimizados foram o pH (7,0), força iônica (2% m/v). Os parâmetros de méritos obtidos foram: R^2 (0,998), LOD (1,3 $\mu\text{g L}^{-1}$), LOQ (4,4 $\mu\text{g L}^{-1}$) e um RSD (% $,n=5$) de 1,8 – 6,7. Os fatores de enriquecimento e teste de recuperação foram de 18 e 91 – 95%, respectivamente.

Nas condições estudadas, os testes de migração de BPA em garrafas de policarbonato e polipropileno não indicaram uma migração significativa do BPA para as amostras de água. A determinação de BPA em amostras de água mineral comercial, na forma natural e gaseificada, apresentaram valores entre <1,3 e 6,48 $\mu\text{g L}^{-1}$, concentrações a baixo do limite máximo de 0,6 mg L^{-1} especificados pela legislação brasileira.

Vale ressaltar que apesar de não ter ocorrido à migração de BPA nas condições avaliadas para os *esqueezes* e água mineral comercial, outros autores observaram que existem migrações significativas de BPA sob aquecimento. Assim sendo, são necessários mais estudos para avaliar a migração de BPA em outras condições e de outros materiais.

7 REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. ANVISA. **RDC nº 56, de 16 de novembro de 2012.** Dispõe sobre a lista de monômeros, outras substâncias iniciadoras e polímeros autorizados para a elaboração de embalagens e equipamentos plásticos em contato com alimentos. Brasília, 2012.

ALMAADEED, M. A.; LABID, S.; KRUPA, I.; OUEDERNI M. **Effect of waste wax and chain structure on the mechanical and physical properties of polyethylene.** Arabian Journal of Chemistry, vol. 8, pg. 388 – 399, 2015.

ANDERSON, D. J.; BROZEK, E. M.; COX, K. J.; PORUCZNIK, C. A.; WILKINS, D. G. **Biomonitoring method for bisphenol A in human urine by ultra-high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry.** Journal of Chromatography B, vol. 953, pg. 53 – 61, 2014.

ANTHEMIDIS, A. N.; KALLIRROY-IONNA, I. G. **Recent developments in homogeneous and dispersive liquid-liquid extraction for inorganic elements determination. A review.** Talanta, vol. 80, pg. 413 – 421, 2009.

AZEVEDO, D. A.; LACORTE, S.; VIANA, P.; BARCELÓ, D. **Occurrence of nonylphenol and bisphenol A in surface water from Portugal.** Journal of Brazilian Chemical Society, vol. 12, pg. 532 – 537, 2001.

BALASHOVA, M. I.; MECO, E.; DANNER, P. R. **Diffusion and solubility of hazardous compounds in polyvinyl chloride.** Fluid Phase Equilibria, vol. 366, pg. 69 – 73, 2014.

BARÃO, M. Z.; **Embalagens para produtos alimentícios – Dossiê Técnico.** Instituto de Tecnologia do Paraná – TECPAR, pg. 3 – 23, 2011.

BATISTA, A. S. J. **Produção do Poli(Tereftalato de etileno) modificado com glicerol e derivados.** Tese (Doutorado), Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química. Universidade Federal do Rio de Janeiro, pg. 9 – 14, 2010.

BERNARD, L.; BOURDEAUX, D.; PEREIRA, B.; AZAROUAL, N.; BARTHÉLÉMY, C.; BREYSSE, P. CHENNEL, R.; CUEFF, T. DINE, T.; ELJEZI, F.; GENAY, N.; KAMBIA, M.; LECOEUR, M.; MASSE, P.; ODOU, T.; RADANIEL, N.; SIMON, C.; VACCHER, C.; VERLHAC, M.; YESSAAD, B.; DÉCAUDIN, V.; SAUTOU, V. **Analysis of plasticizers in PVC medical devices: Performance comparison of eight analytical methods.** Talanta, vol. 162, pg. 604 – 611, 2017.

BERNARDO, M. E. P.; NAVAS, A. S.; MURATA, F. T. L.; ALCÂNTARA, S. R. M. **Bisfenol A: o uso em embalagens para alimentos, exposição e toxicidade – Uma Revisão.** Revista Inst. Adolfo Lutz, vol. 74, pg. 1 – 11, 2015.

BERNARDO, M. E. P.; NAVAS, S. A.; MURATA, F. T. L.; ALCÂNTARA, S. R. M. **Bisfenol A: o uso em embalagens para alimentos, exposição e toxicidade – Uma Revisão.** Rev. Inst. Adolfo Lutz, vol. 74, pg. 1 – 11, 2015.

BORRELLY, F. D.; **Estudo comparativo da degradação de poliestireno e de poliestireno de alto impacto por envelhecimento natural e artificial.** Tese (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Universidade de São Paulo, São Paulo, pg. 3 – 16, 2002.

CALDAS, S. S.; ZANELLA, R.; GONÇALVES, F. F.; PRIMEL, G. E.; PRESTES, O. D.; MARTINS, M. L. **Principais técnicas de preparo de amostra para a determinação de resíduos de agrotóxicos em água por cromatografia líquida com detecção por arranjo de diodos e por espectrometria de massas.** Química Nova, vol. 34, pg. 1604 – 1617, 2011.

CANDIAN, L. M. **Estudo do polietileno de alta densidade reciclado para uso em elementos estruturais.** Dissertação (Mestrado) – Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo, pg. 35, 2007.

CAO, Q.; YUAN, G.; YIN, L.; CHEN, D.; HE, P.; WANG, H. **Morphological characteristics of polyvinyl chloride (PVC) dechlorination during pyrolysis process: Influence of PVC content and heating rate.** Waste Management, vol. 58, pg. 241 – 249, 2016.

CARNEIRO, C. F. A. **Determinação de “Bisfenol A” em água por microextração líquido-líquido dispersiva e cromatografia líquida com detecção por fluorescência.** Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal de Maro Grosso do Sul, Campo Grande, pg. 17 – 43, 2016.

CHARLOTTE, J.; FIELL, P. **Design Industriel A-Z.** Taschen, 2001.

CHEN, T. C.; SHUE, M. F.; YEH, Y. L.; KAO, T. J. **Bisphenol A occurred in Kao-Pin River and its tributaries in Taiwan.** Environ. Mont. Assess, vol. 161, pg. 135 – 145, 2010.

COLLINS, H. C.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S.; **Fundamentos de Cromatografia**. Editora UNICAMP, pg. 452, 2006

CORAZZA, F. E. C. **Termoplásticos: os materiais e suas transformações**. 4ª ed. São Paulo, s.n., 1995.

COUTINHO, F. M. B.; MELLO, I. L.; MARIA, L. C. S. **Polietileno: Principais tipos, propriedades e aplicações**. Polímeros: Ciência e Tecnologia, vol. 13, pg. 1 – 13, 2003.

DANTAS, L. R.; LIMA, P. A. C.; **Considerações sobre a qualidade de embalagens plásticas recicladas**. 9º Congresso Brasileiro de Polímeros, 2007.

DEGANI, A. L. G.; CASS, Q. B.; VIEIRA, P. C. **Cromatografia: um breve ensaio**. Atualidades em Química, vol. 7, pg. 21 – 25, 1998.

DELGADO, B.; PINO, V.; AYALA, J. H.; AFONSO, A. M.; CONZÁLEZ, V. **A novel preconcentration strategy for extraction methods based on common cationic surfactants: An alternative to classical coextractive extraction**. Journal of Chromatography A, vol. 1257, pg. 9 – 18, 2012.

DIONÍSIO, A. G. G.; BATISTÃO, M. B.; SANTOS, B. V.; ICERI, T. M.; CASSIANO, N. M.; CASS, Q. B. **Novas tendências em preparo de amostras para cromatografia líquida**. Scientia Chromatographica, vol. 2, pg. 19 – 29, 2010.

ENCARNAÇÃO, F. M. P. I.; **Estudos de Migração do Bisfenol A em Biberões**. Dissertação (Mestrado), Faculdade de Farmácia da Universidade de Lisboa, Lisboa, Portugal, pg. 29 – 31, 2007.

ESRAFILI, A.; YAMINI, Y.; SHARIATI, S.; **Hollow fiber-based liquid phase microextraction combined with high-performance liquid chromatography for extraction and determination of some antidepressant drugs in biological fluids**. Analytica Chimica Acta, vol. 604, pg. 127 – 33, 2007.

ERRICO, S.; BIANCO, M.; MITA, L.; MIGLIACCIO, M.; ROSSI, S.; NICOLUCCI, C.; MENALE, C.; PORTACCIO, M.; GALLO, P.; MITA, D. G.; DIANO, N. **Migration of bisphenol A into canned tomatoes produced in Italy: Dependence on temperature and storage conditions**. Food Chemistry, vol. 160, pg. 157 – 164, 2014.

FABRIS, S.; FREIRE, A. T. M.; REYES, R. G. F. **Embalagens plásticas: tipo de materiais, contaminação de alimentos e aspectos de legislação.** Rev. Brasileira de Toxicologia, vol. 19, pg. 59 – 70, 2006.

FACCHIN, I.; PASQUINI, C. **Extração Líquido-líquido em sistema de fluxo.** Química Nova, vol. 21, pg. 60 – 68, 1998.

GÓMEZ, A. B.; RUBIO, S.; BENDITO, P. D. **Analytical methods for the determination of bisphenol A in food.** Journal of Chromatography A, vol. 1216, pg. 449 – 469, 2009.

HAERI, S. A.; **Bio-sorption based dispersive liquid-liquid microextraction for the highly efficient enrichment of trace-level bisphenol A from water samples prior to its determination by HPLC.** Journal of Chromatography B, vol. 1028, pg. 186 – 191, 2016.

HAMADA, H.; FUJIHARA, K.; HARADA, A.; **The influence of sizing conditions on bending properties of continuous glass fiber reinforced polypropylene composites.** Elsevier Science, 2000.

HARPER, C. A. **Modern Plastics Handbook.** McGraw-Hill, pg. 1298, 2000.

HEY, M. J.; JACKSON, D. P.; YAN, H. **The salting-out effect and phase separation in aqueous solutions of electrolytes and poly(ethylene glycol).** Polymer, vol. 46, pg. 2567 – 2572, 2005.

HERNANDO, M. D.; MEZCUA, M.; GÓMEZ, M. J.; MALATO, O.; AGÜERA, A.; FERNÁNDEZ-ALBA, A. R. **Comparative study of analytical methods involving gas chromatography-mass spectrometry after derivatization and chromatography-tandem mass spectrometry for the determination of selected endocrine disrupting compounds in wastewaters.** Journal of Chromatography A, vol. 1047, pg. 129 – 135, 2004.

JAKIMSKA, A.; HUERTA, B.; BARGANSKA, Z.; WASIK, A. K.; MOZAZ, S. R.; BARCELÓ, D. **Development of a liquid chromatography-tandem mass spectrometry procedure for determination of endocrine disrupting compounds in fish from Mediterranean rivers.** Journal of Chromatography A, vol. *in press*, 2013.

JORGE, NEUZA. **Emabalagens para alimentos.** Cultura Acadêmica: Universidade Estadual Paulista. 2013.

KAREL, M.; LAND, D. **Protective Packaging**. In: Karel, M. L. D. **Physical Principles of Food Preservation**. New York, Marcel Dekker. 2ª edição, cap. 12, 2003.

KAWAGUCHI, M.; INOUE, K.; YOSHIMURA, M.; ITO, R.; SAKUI, N.; OKANOUCI, N.; NAKAZAWA, H. **Determination of bisphenol a in river water and body fluid samples by stir bar sorptive extraction with *in situ* derivatization and thermal desorption-gas chromatography-mass spectrometry**. Journal of Chromatography B, vol. 805, pg. 42 – 48, 2004.

KRISHNAN A. V. ET AL. **Bisphenol-A: an estrogenic substance is released from polycarbonate flasks during autoclaving**. Endocrinology, vol.132, pg. 2279 – 2286, 1993.

LANÇAS, F. M. **Cromatografia em fase gasosa**. Acta, pg. 254, 1993.

LEANDRO, F. Z. **Bisfenol A: validação de métodos e ocorrência em água superficial e tratada da cidade de Araraquara**. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Estadual Paulista, pg. 41 – 43, 2006.

LÓPES-DARIAS, J.; GERMAN-HERNANDEZ, M.; PINO, V.; AFONSO, V. M. **Dispersive liquid-liquid microextraction versus single-drop microextraction for the determination of several endocrine-disrupting phenols from seawaters**. Talanta, vol. 80, pg. 1611 – 1618, 2010.

MALDANER, L.; JARDIM, I. C. S. F. **O estado da arte da cromatografia líquida de ultra eficiência**. Química Nova, vol. 32, pg. 214 – 222, 2009.

MARCZAK, R. J. **Polímeros como Materiais de Engenharia**. Senai CIMATEC, Porto Alegre, 2004.

MARTINS, M. L.; PRIMEL, G. E.; CALDAS, S. S.; PRESTES, O. D.; ADAIME, M. B.; RENATO, Z. **Microextração líquido-líquido Dispersiva (DLLME): fundamentos e aplicações**. Scientia Chromatographica, vol. 4, pg. 35 – 51, 2012.

MELWANKI, M.; CHEN, W.; BAI, H.; LIN, T.; FUH, M.; **Determination of 7-aminoflunitrazepam in urine by dispersive liquid-liquid microextraction with**

liquid chromatography-electrospray-tandem mass spectrometry. Talanta, vol. 78, pg. 618 – 22, 2009.

MIKOLAJEWSKA, K.; STRAGIEROWICZ, J.; GROMADZINSKA, J. **Bisphenol A – Application, sources of exposure and potential risks in infants, children and pregnant women.** International Journal of Occupational Medicine and Environmental Health, vol. 28, pg. 209 – 241, 2014.

MONTAGNER, É. **Determinação de Bisfenol A em água: uma investigação na cidade de Campo Grande – MS.** 169 f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, pg. 19 – 21, 2010.

MOREIRA, J. B.; YOKOYA, C. M. J.; GAITANI, M. C.; **Microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME): fundamentos, inovações e aplicações biológicas.** Scientia Chromatographica, vol. 6, pg. 186 – 204, 2014.

MOURA, R. A.; BANZATO, J. M. **Embalagem, Utilização & Containerização.** Imam, 1997.

PEDERSEN, G. A. ET AL. **Migration of bisphenol A from polycarbonate plastic of diferente qualities.** Technical University of Denmark. Environmental Project no. 1710, 12, 2015.

PUSVASKIENE, E.; JANUSKEVIC, B.; PRICHODKO, A.; VICKACKAITE, V. **Application of dispersive liquid liquid microextraction for the analysis of triazophos and carbaryl pesticides in water and fruit juice samples.** Analytica Chimica Acta, vol. 632, pg. 289 – 295, 2009.

REZAEI, M. ET AL. **Determination of organic compounds in water using dispersive liquid-liquid microextraction.** Journal of Chromatography A, vol. 1116, pg. 1 – 9, 2006.

REZAEI, M. ET AL. **Dispersive liquid-liquid microextraction combined with high-performance liquid chromatography-UV detection as a very simple, rapid and sensitive method for the determination of bisphenol A in water samples.** Journal of Chromatography A, vol. 1216, pg. 1511 – 1514, 2009.

ROCHESTER, J. R. **Bisphenol A and human health: A review of the literature.** Reproductive Toxicology, vol. 42, pg. 132 – 155, 2013.

ROMÃO, W.; SPINACÉ, M. A. S.; PAOLI, M. A. **Poli(Tereftalato de Etileno), PET: Uma Revisão Sobre os Processos de Síntese, Mecanismos de Degradação e sua Reciclagem.** Polímeros: Ciência e Tecnologia, vol. 19, pg. 121 – 132, 2009.

SARANTÓPOULOS, C.I.G.L.; OLIVEIRA, L.M. CANAVESI, E. **Requisitos de Conservação de Alimentos em Embalagens Flexíveis.** Campinas: CETEA/ITAL, 2001.

SETA, D. D.; MINDER, I.; DESSÌ-FULGHERI, F.; FARABOLLINI, F. **Bisphenol A exposure during pregnancy and lactation affects maternal behavior in rats.** Brain Research Bullentin, vol. 65, pg. 255 – 260, 2005.

SUNGUR, S. ET AL. **Determination of bisphenol A migrating from canned food and beverages in markets.** Food Chemistry, vol. 142, pg. 87 – 91, 2014.

TOMISAWA, R.; IKAGA, T.; KIM, K.H; OHKOSHI, Y.; OKADA, K.; MASUNAGA, T.; KANAYA, T.; MASUDA, M.; MAEDA, Y. **Effect of draw ratio on fiber structure development of polyethylene terephthalate.** Polymer, vol. 116, pg. 357 – 366, 2017.

TRIBST, A. A. L.; SOARES, B. M. C.; AUGUSTO, P. E. D. **Papel da embalagem na integridade dos alimentos.** Nutrição Profissional, vol. 21, 2008.

WORLD HEALTH ORGANIZATION; FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **Toxicological and Health Aspecto of Bisphenol A.** World Health Organization, pg. 17 – 41, 2010.

YOON, Y.; WESTERHOF, F. P.; SNYDER, S. A.; ESPARZAA, M. **HPLC – fluorescence detection and adsorption of bisphenol A, 17 β - estradiol, and 17 α ethynyl estradiol on powdered activated carbono.** Water Research, vol. 37, pg. 3530 – 3537, 2003

ZANG, X; WU. Q.; Z. M. XI, G.; WANG, Z. **Developments of Dispersive Liquid-Liquid Microextraction Technique.** Chinese Journal of Analytical Chemistry, vol. 37, 2, pg. 161 – 168, 2009.