

SARA DA SILVA ANACLETO

SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE UM POLÍMERO A BASE DE ÁCIDO METACRÍLICO/SÍLICA PARA DETERMINAÇÃO ENANTIOSSELETIVA DE SULFÓXIDO DE ALBENDAZOL: ESTUDOS DE ADSORÇÃO E PREPARO DE AMOSTRAS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação Multicêntrico em Química de Minas Gerais da Universidade Federal de São João del-Rei, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Química.

Área de Concentração: Química.

Orientador: Prof. Dr. Keyller Bastos Borges

Co-orientador: Prof. Dr. Arnaldo César Pereira

Universidade Federal de São João del-Rei

Departamento de Ciências Naturais

São João del Rei – MG

São João del-Rei – MG

PPGMQ – UFSJ

2016

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

FICHA CATALOGRÁFICA

Anacleto, Sara da Silva

Síntese e caracterização de um polímero a base de ácido metacrílico/sílica para determinação enantiosseletiva de sulfóxido de albendazol: estudos de adsorção e preparo de amostras.

82f.; II; 30 cm

Dissertação de Mestrado à Universidade Federal de São João del-Rei/Departamento de Ciências Naturais – Programa de Pós-Graduação Multicêntrico em Química de Minas Gerais.

Orientador: Borges, Keyller Bastos; co-orientador: Pereira, Arnaldo César

Referências: f. 71-82

1. Polímero 2. HPLC 3. Sulfóxido de Albendazol 4. Preparo de amostras 5. Urina Humana 6. Estudos de adsorção.

Dedicatória

“Dedico este trabalho a Deus, minha família e a todos que, de alguma forma, contribuíram para que eu concluísse mais essa etapa”

Agradecimentos

Quero agradecer:

- A Deus, por ter me dado forças e coragem para iniciar e concluir mais uma conquista em minha vida;
- Aos meus pais Isaías e Maria Luíza por apoiarem todas as minhas escolhas; À minha madrinha Valéria, Tia Terezinha, minha irmã Raquel e meu cunhado Marcelo, por estarem sempre ao meu lado e, apesar dos conflitos, me entenderem e auxiliarem nas divergências; Ao meu namorado Francisco pela paciência, incentivo e carinho nos momentos em que pensei em desistir. A todos os meus familiares e amigos pelo incentivo e dedicação.
- Ao Prof. Dr. Keyller pela orientação, pois sem seus ensinamentos, explicações e ajudas este trabalho não teria sido concluído com êxito. Obrigada por ter confiado em mim e aceitado ter sido meu orientador.
- Aos colegas do LASEP, pela ajuda, companhia e colaboração;
- À Hanna, por estar sempre ao meu lado, em todos os momentos e me incentivar a seguir em frente mesmo diante dos erros e tornar o ambiente de trabalho mais leve, alegre.
- Ao Departamento de Ciências Naturais (DCNat) e a Universidade Federal de São João del-Rei (UFSJ) pela infraestrutura disponibilizada para o desenvolvimento e execução deste trabalho;
- A todos os funcionários da UFSJ que de diversas formas auxiliaram o desenvolvimento deste trabalho.

RESUMO

ANACLETO, S. S. **Síntese e caracterização de um polímero a base de ácido metacrílico/sílica para determinação enantiosseletiva de sulfóxido de albendazol: estudos de adsorção e preparo de amostras.** 82 p. Dissertação (mestrado), Universidade Federal de São João del-Rei (UFSJ), Departamento de Ciências Naturais (DCNAT), São João del-Rei, 2016.

Atualmente, 56% dos fármacos existentes são quirais. Os enantiômeros de um fármaco podem ter diferentes atividades farmacológicas e por isso é de grande interesse o desenvolvimento de métodos enantiosseletivos. Nesse sentido, o sulfóxido de albendazol (ABZSO), vermífugo quiral largamente utilizado tanto em humanos quanto medicina veterinária, merece destaque. Diversas metodologias vêm sendo desenvolvidas para a análise deste composto, mas vê-se preferencialmente a determinação em plasma por SPE, precipitação proteica, dentre outros. Portanto, o objetivo deste trabalho foi sintetizar e caracterizar um polímero orgânico/inorgânico molecularmente impresso (MIP), para posterior utilização em procedimentos de preparo de amostra na determinação de ABZSO em urina por HPLC/DAD, bem como a realização de estudos de adsorção para a aferição da capacidade e processo de adsorção dos materiais empregados. MIP e NIP (polímero não impresso) foram sintetizados e caracterizados, apresentando características das substâncias empregadas nas sínteses (Infravermelho por Transformada de Fourier - FTIR), altas temperaturas de decomposição (Termogravimetria - TG), acima de 400 °C e morfologia (Microscopia Eletrônica de Varredura - MEV). As melhores condições cromatográficas: fase móvel constituída de etanol : água (50 : 50, v/v); vazão 0,9 mL min⁻¹; temperatura 40 °C; coluna Agilent® Eclipse Plus C₁₈(100 × 4,6 mm, 3,5 μm) acoplada a uma coluna Chiralpak® IA-3 (100× 4,6 mm, 3μm) e λ = 230 nm. No preparo de amostras: 300 μL de água (solvente de lavagem), 300 μL de etanol : ácido acético (9 : 1, v/v) (solvente de eluição), quantidade de material de 20 mg, volume de amostra de 500 μL, pH 9,0 e não adição de NaCl. Além disso, o MIP foi comparado a dois outros materiais (NIP e C₁₈), tendo sido mais eficiente na extração em ambos os casos. A separação dos enantiômeros apresentou pratos teóricos acima de 4000, resolução superior a 2 e assimetria em torno de 1. A otimização da técnica de preparo de amostras proporcionou recuperações por volta de 80 %, com obtenção de melhores resultados para o MIP. Na otimização dos estudos de adsorção, o pH ótimo empregado foi pH 9,0, tal como no preparo de amostras, e tempo de contato por volta de 15 min. O modelo cinético mais adequado tanto para MIP quanto para NIP foi o de pseudo-segunda ordem e com relação às isotermas, as mais ajustadas foram as do MIP, comprovando mais uma vez a melhor capacidade de adsorção deste se comparado ao NIP sintetizado.

Palavras-chave: Polímero, HPLC, sulfóxido de albendazol, preparo de amostras, estudos de adsorção.

ABSTRACT

ANACLETO, S. S. **Synthesis and characterization of a polymer based on methacrylic acid / silica for enantioselective determining albendazole sulfoxide: Adsorption studies and preparation of samples.** 82 p. Dissertation (Master), Universidade Federal de São João del-Rei (UFSJ), Department of Natural Sciences (DCNAT), São João del-Rei, 2016.

Currently, 56% of existing drugs are chiral. The enantiomers may have different pharmacological activities and is therefore of great interest in the development of enantioselective methods. In this sense, albendazole sulfoxide (ABZSO), chiral anthelmintic widely used in both human and veterinary medicine, deserves mention. Several methodologies have been developed for the analysis of this compound, but it is seen preferably the determination in plasma by SPE, protein precipitation, among others. Therefore, the aim of this study was to synthesize and characterize an organic / inorganic polymer molecular form (MIP), for later use in sample preparation procedures in determining ABZSO in urine by HPLC/DAD, as well as carrying out adsorption studies to the measurement of capacity and adsorption of the materials. MIP and NIP (non-imprinted polymer) were synthesized and characterized, showing characteristics of the substances employed in the synthesis (Infrared Fourier Transform - FTIR), high decomposition temperatures (Thermogravimetry - TG) above 400 °C and morphology (Scanning Electron Microscopy - SEM). The best chromatographic conditions: mobile phase consisted of ethanol : water (50 : 50, v/v); flow 0.9 mL min⁻¹; temperature 40 °C; Agilent® Eclipse Plus C₁₈ column (100 × 4.6 mm, 3.5 μm) coupled to a Chiralpak® IA-3 column (100 × 4.6 mm, 3 μm) and λ = 230 nm. In the sample preparation: 300 μL water (the washing solvent), 300 μL ethanol : acetic acid (9 : 1, v/v) (elution solvent), the amount of material 20 mg sample volume 500 μL, pH 9.0 and no addition of NaCl. Furthermore, the MIP was compared to two other materials (NIP and C₁₈) being more efficient in the extraction in both cases. The separation of enantiomers presented theoretical plates above 4000, resolution greater than 2 and asymmetry around 1. The optimization of sample preparation technique provided recoveries around 80%, with better results for the MIP. In optimizing the adsorption studies, the optimum pH was pH 9.0 employed, as in sample preparation, and contact time about 15 min. The most appropriate kinetic model for both MIP and for NIP was the pseudo second-order with respect to the isotherms and the best fit were the MIP, proving again the best adsorption capacity compared to this synthesized NIP.

Keywords: Polymer, HPLC, albendazole sulfoxide, preparation of samples, adsorption studies.

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	1
1.1.	ALBENDAZOL E METABÓLITOS.....	2
1.2.	MÉTODOS NÃO QUIRAIS E QUIRAIS PARA ANÁLISE DO ABZSO.....	4
1.3.	MIP COMO MATERIAL ADSORVENTE EM SPE.....	6
1.4.	PT- μ -SPE.....	10
1.4.1.	<i>C₁₈ como material de recheio.....</i>	<i>12</i>
1.4.2.	<i>Polímeros como material de recheio.....</i>	<i>13</i>
1.4.3.	<i>Materiais de carbono como materiais de recheio.....</i>	<i>15</i>
1.4.4.	<i>Outros materiais de recheio.....</i>	<i>16</i>
1.5.	ADSORÇÃO DE MATERIAIS.....	17
1.5.1.	<i>Cinética em processos de adsorção.....</i>	<i>18</i>
1.5.2.	<i>Isotermas de adsorção.....</i>	<i>21</i>
1.5.3.	<i>Trabalhos empregando estudos de adsorção para sulfóxido de albendazol.....</i>	<i>23</i>
2.	OBJETIVOS.....	24
2.1.	OBJETIVOS GERAIS.....	24
2.2.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	24
3.	MATERIAIS E MÉTODOS.....	25
3.1.	MATERIAIS.....	25
3.1.1.	<i>Reagentes e solventes.....</i>	<i>25</i>
3.1.2.	<i>Soluções-Padrão.....</i>	<i>25</i>
3.1.3.	<i>Equipamentos.....</i>	<i>25</i>
3.2.	MÉTODOS.....	26
3.2.1.	<i>Síntese do MIP e NIP.....</i>	<i>26</i>
3.2.2.	<i>Caracterização do MIP e NIP sintetizados.....</i>	<i>27</i>
3.2.3.	<i>Otimização das Condições de Análise por HPLC/DAD.....</i>	<i>27</i>
3.2.4.	<i>Preparo da PT-MIPs-μ-SPE.....</i>	<i>28</i>
3.2.5.	<i>Desenvolvimento e otimização do preparo de amostra.....</i>	<i>28</i>
3.2.6.	<i>Estudos de adsorção.....</i>	<i>29</i>
4.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	30
4.1.	OTIMIZAÇÃO DO MÉTODO DE SEPARAÇÃO ENANTIOSELETIVA DO ABZSO.....	30
4.2.	CARACTERIZAÇÃO DO MATERIAL SINTETIZADO.....	40
4.2.1.	<i>Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier.....</i>	<i>40</i>
4.2.2.	<i>Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....</i>	<i>40</i>
4.2.3.	<i>Termogravimetria.....</i>	<i>42</i>
4.3.	DESENVOLVIMENTO E OTIMIZAÇÃO DO PREPARO DE AMOSTRA.....	42
4.3.1.	<i>Efeito do solvente de lavagem.....</i>	<i>42</i>
4.3.2.	<i>Efeito do solvente de eluição.....</i>	<i>43</i>
4.3.3.	<i>Efeito da quantidade de material.....</i>	<i>44</i>
4.3.4.	<i>Efeito do volume de amostra.....</i>	<i>44</i>
4.3.5.	<i>Efeito do volume de eluente.....</i>	<i>45</i>
4.3.6.	<i>Efeito do pH.....</i>	<i>45</i>
4.3.7.	<i>Efeito da adição de NaCl.....</i>	<i>46</i>
4.3.8.	<i>Avaliação de outros materiais.....</i>	<i>46</i>
4.4.	ESTUDOS DE ADSORÇÃO.....	47
4.4.1.	<i>Avaliação do pH para melhor adsorção.....</i>	<i>47</i>
4.4.2.	<i>Cinética de Adsorção.....</i>	<i>48</i>
4.4.3.	<i>Isotermas de adsorção.....</i>	<i>50</i>
5.	CONCLUSÃO.....	53
6.	PERSPECTIVAS FUTURAS.....	53
7.	REFERÊNCIAS.....	54

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1.**Estrutura molecular do albendazol. Fonte: do próprio autor..... **02**
- Figura 2.**Representação do esquema metabólico do albendazol. Fonte: do próprio autor..... **03**
- Figura 3.**A) Sistema de PT-MIPs- μ -SPE. (a) Seringa de 10 mL; (b) Ponteira 200-1000 μ L; (c) Material adsorvente; (d) Ponteira 200 μ L. B) Etapas de um sistema de PT-MIPs- μ -SPE. (a) Condicionamento; (b) Adição da amostra; (c) Lavagem; (d) Eluição. Fonte: do próprio autor..... **08**
- Figura 4.**Representação da síntese de um MIP. (a) Sítios de ligação de monômero; (b) Analito (molécula molde); (c) Reagente de ligação cruzada; (d) Auto-arranjo; (e) Iniciador radicalar e polimerização; (f) Extração do analito; (g) Polímero com cavidade seletiva. Fonte: do próprio autor..... **09**
- Figura 5.**Cromatograma referente à análise do ABZSO com coluna Chiralpak[®] IB (100 \times 4,6 mm, 5 μ m) protegida com coluna de guarda C12 Phenomenex[®] AJP-6074 (4 \times 3,0 mm), temperatura de 40°C, vazão de 1 mL/min, fase móvel composta por hexano : isopropanol (90 : 10, v/v), comprimento de onda de 210 nm, volume de injeção de 10 μ L e concentração de 0,005 μ g/mL..... **30**
- Figura 6.**(a) Cromatograma referente à análise do ABZSO com coluna Chiralpak[®] IB (100 \times 4,6 mm, 5 μ m) protegida com coluna de guarda C12 Phenomenex[®] AJP-6074 (4 \times 3,0 mm), temperatura de 40°C, vazão de 1 mL/min, fase móvel composta de 100% metanol, comprimento de onda de 210 nm, volume de injeção de 10 μ L e concentração de 0,05 mg/mL. (b) Cromatograma similar à condição (a), contudo com fase móvel composta de água : metanol (80 : 20, v/v)..... **31**
- Figura 7.**Cromatograma referente à análise do ABZSO com coluna Chiralpak[®] IA-3 (100 \times 4,6 mm, 3 μ m) protegida com coluna de guarda C12 Phenomenex[®] AJP-6074 (4 \times 3,0 mm), temperatura de 40°C, vazão de 1 mL/min, fase móvel composta por hexano : isopropanol (90 : 10, v/v), comprimento de onda de 210 nm, volume de injeção de 10 μ L e concentração de 0,005 μ g/mL..... **32**

- Figura 8.**Cromatograma referente à análise dos enantiômeros do ABZSO com boa resolução..... **33**
- Figura 9.**(a)Cromatograma referente à análise do ABZSO com coluna Chiralpak[®] IA-3 (100 × 4,6 mm, 3µm) protegida com coluna de guarda C12 Phenomenex[®] AJP-6074 (4 × 3,0 mm), temperatura de 40°C, vazão de 0,4 mL/min, fase móvel composta de metanol : água (95 : 5, v/v), comprimento de onda de 210 nm, volume de injeção de 10 µL e concentração de 0,005 µg/mL. Sendo que 1 e 2 correspondem aos enantiômeros do ABZSO; (b) Condição similar à condição (a), contudo com composição da fase móvel de acetonitrila : água (95 : 5, v/v)..... **33**
- Figura 10.**(a)Cromatograma referente à análise do ABZSO com coluna Chiralpak[®] IA-3 (100 × 4,6 mm, 3µm) protegida com coluna de guarda C12 Phenomenex[®] AJP-6074 (4 × 3,0 mm), temperatura de 37°C, vazão de 0,4 mL/min, fase móvel composta de etanol : água (95 : 5, v/v), comprimento de onda de 210 nm, volume de injeção de 10 µL e concentração de 0,005 µg/mL. Sendo que 1 e 2 correspondem aos enantiômeros do ABZSO; (b) Condição similar à condição (a), contudo com temperatura de 34°C..... **34**
- Figura 11.**(a)Cromatograma referente à análise do ABZSO com coluna Chiralpak[®] IA-3 (100 × 4,6 mm, 3µm) protegida com coluna de guarda C12 Phenomenex[®] AJP-6074 (4 × 3,0 mm), temperatura de 40°C, vazão de 0,7 mL/min, fase móvel composta de etanol : água (95 : 5, v/v), comprimento de onda de 210 nm, volume de injeção de 10 µL e concentração de 0,005 µg/mL. Sendo que 1 e 2 correspondem aos enantiômeros do ABZSO; (b) Condição similar à condição (a), contudo com vazão de 0,1 mL/min..... **35**
- Figura 12.**(a)Cromatograma referente à análise do ABZSO com coluna Chiralpak[®] IA-3 (100 × 4,6 mm, 3µm) protegida com coluna de guarda C12 Phenomenex[®] AJP-6074 (4 × 3,0 mm), temperatura de 40°C, vazão de 0,4 mL/min, fase móvel composta de 100% etanol, comprimento de onda de 210 nm, volume de injeção de 10 µL e concentração de 0,005 µg/mL. Sendo que 1 e 2 correspondem aos enantiômeros do ABZSO; (b) Condição similar à condição (a), contudo com composição da fase móvel composta de etanol : água (85 : 15, v/v)..... **35**
- Figura 13.**Gráfico de contorno empregando a condição otimizada da análise dos enantiômeros do ABZSO..... **38**

Figura 14. Espectro 3D empregando a condição otimizada da análise dos enantiômeros do ABZSO.....	38
Figura 15. Cromatograma referente à análise do ABZSO com coluna Chiralpak® IA-3 (100 × 4,6 mm, 3µm) protegida com coluna de guarda C12 Phenomenex® AJP-6074 (4 × 3,0 mm) acoplada a uma coluna Agilent® Eclipse Plus C ₁₈ (100 × 4,6 mm, 3,5 µm), temperatura de 40°C, vazão de 0,9 mL/min, fase móvel composta de etanol : água (50 : 50, v/v), comprimento de onda de 230 nm, volume de injeção de 25 µL e concentração de 0,005 µg/mL. Sendo que 1 e 2 correspondem aos enantiômeros do ABZSO. (a) Análise da amostra extraída isenta do analito; (b) Análise da amostra enriquecida com o analito.....	39
Figura 16. Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier para o MIP sintetizado.....	40
Figura 17. Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier para o NIP sintetizado.....	40
Figura 18. Representação das imagens por MEV do MIP sintetizado, nos aumentos de: (a) 500 ×, (b) 2000 × e (c) 4000 ×.....	41
Figura 19. Representação das imagens por MEV do NIP sintetizado nos aumentos de: (a) 500 ×, (b) 2000 × e (c) 4000 ×.....	41
Figura 20. Gráfico proveniente da termogravimetria do MIP.....	42
Figura 21. Gráfico proveniente da termogravimetria do NIP.....	42
Figura 22. Corrida cromatográfica otimizada referente aos testes do solvente de lavagem. (a) Emprego de água como solvente de lavagem; b) Emprego de hexano como solvente de lavagem.....	43
Figura 23. Estudo do efeito do solvente de eluição na recuperação dos analitos em urina humana: (a) etanol : ácido acético (9 : 1, v/v), (b) metanol : ácido acético (9 : 1, v/v), (c) acetonitrila : ácido acético (9 : 1, v/v).....	43
Figura 24. Estudo do efeito da quantidade de material na recuperação dos analitos em urina humana. (a) 10 mg; (b) 20 mg; (c) 30 mg.....	44
Figura 25. Estudo do efeito do volume de amostra na recuperação dos analitos em urina humana. (a) 250 µL; (b) 500 µL; (c) 750 µL.....	44

Figura 26. Estudo do efeito do volume do eluente na recuperação dos analitos em urina humana. (a) 200 μ L; (b) 300 μ L; (c) 400 μ L; (d) 500 μ L.....	45
Figura 27. Estudo do efeito do pH na recuperação dos analitos em urina humana. (a) pH 3.0; (b) pH 7.5; (c) pH 9.0; (d) pH 12.0.....	45
Figura 28. Estudo do efeito da força iônica na recuperação dos analitos em urina humana. (a) Sem adição de sal; (b) 5%; (c) 10%; (d) 20%.....	46
Figura 29. Estudo da recuperação dos analitos em urina empregando outros materiais: (a) MIP; (b) NIP; (c) C ₁₈	47
Figura 30. Avaliação do pH de adsorção para o (A) MIP e (B) NIP sintetizado.....	47
Figura 31. Gráficos relativos ao estudo da cinética de adsorção do enantiômero 1 e 2 do ABZSO para o MIP e NIP sintetizados. (a) Cinética de adsorção MIP e NIP; (b) pseudo-primeira ordem MIP; (c) pseudo-primeira ordem NIP; (d) pseudo-segunda ordem MIP; (e) pseudo-segunda ordem NIP; (f) Elovich MIP; (g) Elovich NIP; (h) Difusão intra-partícula MIP; (i) Difusão intra-partículaNIP.....	49
Figura 32. Representação da junção de todas as isotermas de adsorção construídas para os enantiômeros do ABZSO tanto para o NIP quanto para o MIP sintetizados. (a) Enantiômero 1 do ABZSO para o MIP; (b) Enantiômero 2 do ABZSO para o MIP; (c) Enantiômero 1 do ABZSO para o NIP; (d) Enantiômero 2 do ABZSO para o NIP.....	51

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Dados relevantes acerca dos estudos encontrados empregando C ₁₈ como material adsorvente em PT- μ -SPE.....	12
Tabela 2. Dados relevantes acerca dos estudos encontrados empregando polímeros como material adsorvente em PT- μ -SPE.....	14
Tabela 3. Dados relevantes acerca dos estudos encontrados empregando materiais de carbono como material adsorvente em PT- μ -SPE.....	15
Tabela 4. Dados relevantes acerca dos estudos encontrados empregando outros materiais como material adsorvente em μ -SPE adaptada em ponteira.....	16
Tabela 5. Condição aceitável para a análise dos enantiômeros do ABZSO.....	32
Tabela 6. Número de pratos teóricos, resolução e assimetria para cada um dos picos dos cromatogramas das Figuras 9, 10, 11 e 12 respectivamente, obtidos a partir do software do equipamento.....	36
Tabela 7. Valores de número de pratos teóricos, resolução, assimetria, área, tempo de retenção, fator de retenção e fator de separação para os enantiômeros do ABZSO obtidos a partir da condição aceitável de análise obtidos a partir do software do equipamento.....	37
Tabela 8. Dados relativos à cinética de adsorção dos enantiômeros do ABZSO para o MIP e NIP sintetizados.....	50
Tabela 9. Dados relativos às isotermas de adsorção dos enantiômeros do ABZSO para o MIP e NIP sintetizados.....	52

1. INTRODUÇÃO

Uma molécula é considerada quiral quando a imagem especular não pode ser sobreposta à molécula original. Sua forma mais comum contém um carbono tetraédrico, no qual estão ligados quatro diferentes grupamentos. O átomo de carbono é o centro estereogênico ou assimétrico da molécula (RIESOVÁ et al., 2016).

Uma molécula desse tipo pode existir em dois arranjos espaciais diferentes, que são estereoisômeros um do outro. Esses tipos de estereoisômeros são chamados de enantiômeros (do grego, *enantio*= opostos). A única diferença que esses enantiômeros apresentam é a propriedade de desviar o plano da luz polarizada para lados opostos, quando uma solução de cada um deles é submetida a um polarímetro. Todas as demais propriedades físicas são iguais (RIESOVÁ et al., 2016).

Quiralidade é uma grande preocupação na indústria farmacêutica moderna, uma vez que cerca de 56% dos fármacos são compostos quirais, sendo que 88% destes são aplicados terapêuticamente na forma de racematos. Este interesse pode ser atribuído em grande parte a uma maior consciência de que enantiômeros de um fármaco racêmico podem ter diferentes propriedades farmacocinéticas e farmacodinâmicas (RENTSCH, 2002). O corpo, sendo um seletor quiral incrível, irá interagir com cada fármaco racêmico diferente e metabolizar cada enantiômero por um caminho separado para produzir atividade farmacológica distinta. Assim, um enantiômero pode produzir uma atividade terapêutica, enquanto o outro pode estar inativo ou, no pior dos casos, produzir efeitos indesejados.

Nesse sentido, do ponto de vista analítico, mostra-se interessante e extremamente necessário o desenvolvimento de métodos cada vez mais seletivos e sensíveis, capazes de identificar um analito de interesse entre tantas outras substâncias que possam estar presentes no meio de análise e, detectá-lo em baixas concentrações, seja qual for o enantiômero.

Dentre as técnicas mais empregadas para tais fins, encontra-se a extração em fase sólida (do inglês, SolidPhaseExtraction – SPE), que aliada à miniaturização e emprego de polímeros molecularmente impressos (MIPs) como sorventes, que por sua vez possuem sítios de reconhecimento específicos e seletivos, deu origem a uma nova técnica, com baixo consumo de solventes orgânicos e obtenção de resultados satisfatórios: a chamada extração em fase sólida com MIPs miniaturizada em ponteira (PT-MIPs- μ -SPE, do inglês, *Pipette-tip molecularly imprinted polymers microsolid phase extraction*).

Não obstante encontram-se também os estudos de adsorção, que aliados ao emprego de MIPs também fornecem resultados que permitem a aferição da capacidade de adsorção do material adsorvente empregado para o composto de interesse.

Nesse contexto, foi desenvolvido e caracterizado um polímero a base de ácido metacrílico/sílica para a determinação de sulfóxido de albendazol (ABZSO). Realizou-se o preparo de amostras em urina humana com o emprego de PT-MIPs- μ -SPE, bem como estudos de adsorção para o material sintetizado para aferição de sua capacidade de adsorção. Todas as amostras foram analisadas por meio de um método enantiosseletivo empregando a HPLC/DAD e fases estacionárias quirais.

1.1. Albendazol e metabólitos

O albendazol (ABZ), benzimidazol que pertence à classe dos metilcarbamatos, está entre os fármacos mais empregados atualmente (**Figura 1**). Também chamado de metil-[(5-propil-tio)-1H-benzimidazol-2-il]carbamato, consiste em um agente de largo espectro anti-helmíntico amplamente utilizado para a prevenção e tratamento de doenças infecciosas causadas ou transmitidas por parasitas (HORTON, 2000; MORENO et al., 2004).

Figura 1. Estrutura molecular do ABZ. Fonte: do próprio autor.

Após administração de ABZ, ele sofre oxidações sucessivas e o primeiro passo é a conversão em seu metabólito farmacologicamente ativo, ABZSO, um composto quiral com um centro estereogênico em que o enxofre é oxidado, em um segundo passo irreversível e mais lento, para formar o albendazolsulfona (ABZSO₂), espécie inativa. Enquanto ABZ possui um efeito terapêutico claro, alguns estudos farmacocinéticos indicam que ABZSO é responsável por ambos os efeitos anti-helmínticos e tóxicos (MERINO et al., 2003).

Devido ao ABZ possuir um metabolismo extenso, suas concentrações plasmáticas são geralmente baixas. Assim, ele não é mais detectado no plasma após administração oral e as suas propriedades farmacocinéticas, são estudadas por meio da determinação da concentração plasmática de ABZSO, que está presente em concentrações de plasma da ordem de ng/mL (CASTRO et al., 2009).

A molécula do ABZSO apresenta em sua estrutura química um centro assimétrico na posição do átomo de enxofre, dando lugar à existência de dois enantiômeros, (+)-ABZSO e (-)-ABZSO (**Figura 2**), os quais podem apresentar diferente comportamento farmacológico. (DELATOUR et al., 1990; DELATOUR et al., 1991; SOLANA; RODRIGUEZ; LANUSSE, 2001).

Figura 2. Representação do esquema metabólico do albendazol. Fonte: do próprio autor.

O ABZSO ($C_{12}H_{15}N_3O_3S$), também chamado de ricobendazol, é empregado diretamente como vermífugo de amplo espectro, uma vez que, também aparece como

metabólito do ABZ e de seu pro-fármaco, netobimin (NTB) (**Figura 2**). ABZSO possui um peso molecular de 281,33 g/mol e é uma molécula mais polar do que o ABZ. Seu pKa é de $10,05 \pm 0,10$, igual a outros do seu grupo. Possui natureza anfótera, aumentando sua solubilidade em meio ácido (CAPECE, 2001; SCIFINDER, 2016).

O ABZSO atua sobre os parasitas por meio de dois mecanismos: inibindo o metabolismo energético e também a polimerização da tubulina dos microtúbulos dos parasitas (LACEY, 1990). É ativo contra nemátodos, céstodos e tremátodos, manifestando uma boa atividade, tanto nas formas adultas quanto das larvas dos parasitas (CAMPBELL, 1990).

O ABZSO pode ser administrado por via oral, intraruminal ou subcutânea. Contudo, devido à importância do metabolismo gastrointestinal e da disposição e efetividade dos benzimidazóis e sua má solubilidade, as vias para a administração mais empregadas são a oral e intraruminal (CAPECE, 2001).

1.2. Métodos não quirais e quirais para análise do ABZSO

Vários métodos não quirais são descritos na literatura para a determinação de ABZ e seus metabólitos, inclusive o ABZSO, em sua maioria empregando HPLC e aplicação em fluidos biológicos.

HURTADO et al. (1989), por exemplo, descrevem um método de detecção rápida, seletiva, sensível e confiável para determinação de ABZ e seus metabólitos em hemolinfa empregando UPLC. O método de extração foi a extração líquido-líquido (do inglês, LiquidLiquidExtraction – LLE), seguido por separação e quantificação num sistema de espectrometria de massas. Foram obtidas curvas de calibração com boa linearidade, limite de quantificação (LOQ) e limite de detecção (LOD). Precisão, exatidão e estabilidade mostraram variação aceitável em controle de qualidade. Os resultados do tratamento de dose única sugeriram que as concentrações de ABZ, ABZSO e ABZSO₂ aumentaram e em seguida caíram. Foram observadas tendências diferentes para o tratamento de múltiplas doses, com concentrações de ABZSO e ABZSO₂ subindo ao longo do tempo.

SARIN; DASH; DUA (2004) empregaram um método por HPLC/DAD de fase reversa com aplicação em plasma em uma região com incidência de filariose linfática. O método foi aplicado para determinar os níveis plasmáticos de ABZSO em pacientes normais administrados com ABZ durante estudos farmacocinéticos.

KITZMAN; CHENG; FLEXKENSTEIN (2002) e VALOIS et al. (1994) também determinaram ABZ e seus metabólitos em plasma, só que por HPLC/UV. Os métodos robustos foram aplicados, com realização de estudos farmacocinéticos de ABZ em voluntários saudáveis.

FITOS et al. (1998) determinaram 25 benzodiazepinas quirais e compostos relacionados, dentre eles ABZ e seus metabólitos, em soro. A relação entre a estrutura e enantiosseletividade foi discutida enfatizando o papel das interações hidrofóbicas e de ligação de hidrogênio, bem como a importância da conformação dos enantiômeros. A maioria das benzodiazepinas foram separadas com elevados fatores de separação e alta resolução. A enantioseletividade foi influenciada pela natureza e a concentração do modificador orgânico na fase móvel, bem como pelo pH.

MIRFAZAELIN; DADASHZADEH; ROUNI (2002) realizaram um ensaio simples para ABZ e seus metabólitos também em soro, empregando HPLC-UV. O método envolveu a LLE por acetato de etilo. Ao final, foi desprezada a determinação de ABZ, que não é de importância farmacocinética, uma vez que não é encontrado no plasma humano, após administração oral. O método proposto foi apropriado para posterior estudo de farmacocinética e metabolismo deste medicamento.

PROCHAZKOVA et al. (2000) empregaram um método de eletroforese capilar (em inglês, Capillary Electrophoresis - CE) não aquoso em plasma. A confiabilidade do método desenvolvido foi verificada por meio da análise de 45 amostras de plasma obtidas a partir de doentes tratados com ABZ. Obteve-se uma boa concordância entre os níveis de ABZSO e aqueles determinados por HPLC de rotina. ABZ foi indetectável em todas as amostras dos pacientes, ao passo que os níveis de ABZSO₂ estavam abaixo ou próximos do LOD.

Não obstante aos estudos citados anteriormente, indo além dos métodos não quirais, atualmente existe também um direcionamento crescente para o desenvolvimento de separações estereosseletivas, pois a maioria das moléculas orgânicas, seja de fármacos ou seres vivos, são quirais. Os métodos atuais de análise enantiosseletiva em amostras biológicas incluem técnicas cromatográficas, eletroforéticas, polarimétricas, ressonância magnética nuclear, diluição isotópica, calorimetria e técnicas enzimáticas (KHATER; OESTE, 2015). Dessa forma, são relatados também inúmeros estudos envolvendo a separação enantiosseletiva do ABZSO.

Metodologias baseadas em análise por HPLC/MS foram eficientes para a análise quantitativa dos enantiômeros do ABZSO e do ABZSO₂, como demonstra BONATO et al. 2007, BONATO; LANCHOTE; TAKAYANAGUI (2003), CHEN et al. (2004) e GONZALEZ-HERNANDEZ et al. (2012).

Já a análise dos enantiômeros do ABZSO por HPLC empregando fases estacionárias quirais derivadas de (S)-N-(3,5-dinitrobenzoyl)-tirosinacomo em DELATOUR et al. (1991) e α_1 -glicoproteína ácida como em CRISTÓFOL et al.(2001) têm sido também bastante relatadas e aplicadas para a elucidação da estereosseletividade e da sulfoxidação do ABZ em humanos e vários animais.

PAIAS et al.(1997) apresentaram um método para a análise enantiosseletiva ABZSO no plasma para aplicação em estudos farmacocinéticos clínicos. Da mesma forma, LANCHOTE et al. (1998) também desenvolveram um estudo com aplicação em plasma. Um perfil plasmático de concentração-tempo típico foi apresentado para um paciente sob tratamento para neurocisticercose.

BELAZ et al.(2012) desenvolveram métodos analíticos em escala semi-preparativa por HPLC, utilizando fases estacionárias quirais à base de polissacarídeos. A rotação óptica e dicroísmo circular de ambos os enantiômeros de ABZSO foram realizados.

ZONGDE et al. (2005) empregaram fases estacionárias quirais e análise por HPLC. Em seguida, os métodos de análise foram expandidos para se obter pequenas quantidades (cerca de 1 g) de ambos os enantiômeros do ABZSO.

Como visto, a determinação dos enantiômeros do ABZSO se dá por diferentes métodos tanto quirais quanto não quirais, mas apesar de empregarem diversas formas de análise, a maioria dos estudos desenvolvidos possui um ponto em comum: a aplicação dessas mesmas metodologias para análise de fluidos biológicos, que é considerada uma amostra complexa contendo interferentes. Assim, antes mesmo do desenvolvimento de todos estes procedimentos, deve haver uma preocupação com a eliminação de tais interferentes, por meio de preparo de amostras bem elaborados.

1.3. MIP como material adsorvente em SPE

A SPE é uma técnica de separação líquido-sólido baseada nos mecanismos de separação da cromatografia líquida de baixa pressão e é normalmente utilizada com o intuito

de preparo de amostra, ou seja, de isolar compostos de interesse em matrizes complexas (SABIK; JEANNOT; RONDEAL, 2000).

A SPE utiliza sorventes recheados em cartuchos nas formas de barril ou seringa e as formas de retenção são equivalentes às aquelas envolvidas em cromatografia líquida em coluna. Um cartucho usual é constituído por um tubo de polipropileno contendo de 50 a 500 mg de sorvente, com 40-60 μm de tamanho de partícula, anexado ao tubo por meio de dois filtros. Usualmente, os procedimentos de SPE contêm cinco etapas: (i) ativação do sorvente para gerar disponibilidade dos sítios ativos e redução dos caminhos preferenciais; (ii) condicionamento do sorvente com solvente apropriado para ajustar as forças do solvente de eluição com o solvente da amostra; (iii) introdução da amostra; (iv) limpeza da coluna para retirar os interferentes menos retidos que o analito; (v) eluição e coleta do composto de interesse (LINGEMAN; HOEKSTRA-OUSSOREN, 1997).

Atualmente um grande número de sorventes está disponível comercialmente. Em geral, os materiais de recheio empregados para SPE, são similares aos de cromatografia líquida. Assim, carvão ativado, alumina, sílica gel, silicato de magnésio, fases quimicamente ligadas e polímeros têm sido empregados (QUEIROZ; COLINS; JARDIM, 2001).

Seguindo esta tendência, o direcionamento dos estudos para o desenvolvimento de sorventes mais seletivos e para novas configurações cromatográficas mostra-se uma área bem interessante. Extrações muito seletivas baseadas em colunas recheadas com suportes contendo MIPs, têm sido bastante empregados, possibilitando a realização das etapas de extração, concentração e isolamento em um único passo.

Uma das vantagens mais importantes da SPE em relação à LLE é que ela requer o uso de menos solvente orgânico. Nesse sentido, a miniaturização desta mesma técnica acarretaria um benefício ainda maior para a análise de compostos de interesse, uma vez que empregaria ainda menos solvente e estaria condizente com os princípios da química verde (FRITZ; MARCKA, 2000).

Dessa premissa, surgiu um método simples e versátil para a extração e pré-concentração de compostos de interesse, a chamada microextração em fase sólida com MIPs adaptada em ponteira (PT-MIPs- μ -SPE, do inglês, *Pipette-tip molecularly imprinted polymers micro solid phase extraction*) (**Figura 3**). A técnica mostra-se mais barata do que as convencionais, além de empregar quantidades muito reduzidas de solvente, resultar em

pequenos limites de detecção, ser de fácil realização e automatização, empregar material seletivo, dentre outros (DU et al., 2014).

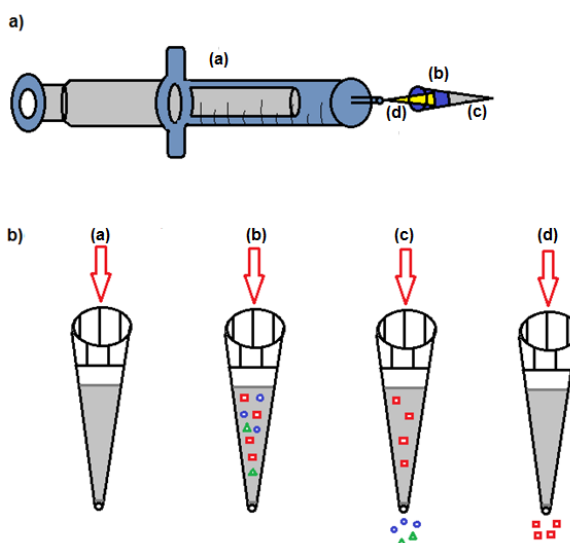


Figura 3.a) Sistema de PT-MIPs-μ-SPE. (a) Seringa de 10 mL; (b) Ponteira 200-1000 μL; (c) Material adsorvente; (d) Ponteira 200 μL. b) Etapas de um sistema de PT-MIPs-μ-SPE. (a) Condicionamento; (b) Adição da amostra; (c) Lavagem; (d) Eluição. Fonte: do próprio autor.

Os MIPs são materiais sintéticos com sítios de reconhecimento gerados artificialmente capazes de religar uma molécula-alvo. Estes materiais são obtidos por polimerização funcional e reticulação de monômeros em torno de uma molécula molde, conduzindo a uma rede altamente reticulada e tridimensional (LI et al., 2015).

Basicamente, a síntese de um MIP ocorre da seguinte forma: em um frasco são adicionados a molécula molde (MM), iniciador radicalar (IR), monômero funcional (MF), agente de ligação cruzada (ALC) e um solvente adequado. O mesmo frasco é mantido sob temperatura controlada por aproximadamente 20 h. Posteriormente, o material é lavado para a retirada da MM. Por meio desse processo, forma-se toda uma rede polimérica ao redor da molécula molde, com sítios específicos e seletivos de reconhecimento, aos quais serão utilizados em análises posteriores. Limitações como estabilidade e reprodutibilidade, foram contornadas e as aplicações aceleradas, produzindo um aumento quase exponencial em artigos publicados com emprego de MIPs durante os últimos anos (LI et al., 2015)(**Figura 4**).

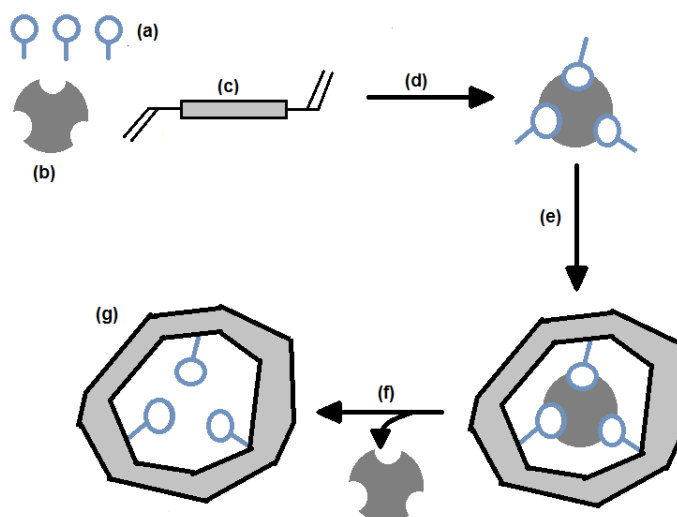


Figura 4. Representação da síntese de um MIP. (a) Sítios de ligação de monômero; (b) Analito (molécula molde); (c) Reagente de ligação cruzada; (d) Auto-arranjo; (e) Iniciador radicalar e polimerização; (f) Extração do analito; (g) Polímero com cavidade seletiva. Fonte: do próprio autor.

Três abordagens diferentes para a síntese de MIPs têm sido relatadas: covalente, semi-covalente e não-covalente. Já o preparo de MIPs híbridos pode ser realizado pela rota sol-gel na qual o precursor trialcoxissilano contendo o grupamento orgânico é incorporado na rede polimérica. Outra estratégia também utilizada no preparo de materiais híbridos é a combinação de monômeros orgânicos com os precursores do processo sol-gel (LEE et al., 2010).

No processo sol-gel, os materiais sol-gel molecularmente impressos incorporam a molécula molde na estrutura rígida inorgânica ou híbrida do polímero. Os materiais inorgânicos usualmente são baseados em sílica, zircônia, titânia ou alumina. Os precursores mais utilizados nesse processo sol-gel são baseados em sílica, utilizando como material de partida alcóxidos de silício como, por exemplo, o tetrametilortosilicato ou tetraetilortosilicato (TEOS).

Os materiais híbridos possuem a vantagem de acumular características tanto dos polímeros orgânicos como dos polímeros inorgânicos, além de possuir maior compatibilidade com uma ampla faixa de solventes (JIANG et al., 2007).

Uma ação recorrente nos estudos empregando MIPs seria a síntese também dos Polímeros Molecularmente não Impressos (NIPs). Tais materiais são sintetizados da mesma forma que o MIP, contudo sem o emprego da MM. Os NIPs são utilizados para fins comparativos, uma vez que não possuem cavidade seletiva e como resultado, devem apresentar menores recuperações do que o MIP.

A utilização de MIPs como materiais adsorventes seletivos permite tratamento personalizado da amostra antes da determinação final. Assim, a sua utilização como material sorvente em SPE tem sido a técnica mais utilizada de aplicação dos MIPs (CARO et al., 2006).

1.4. PT- μ -SPE

A PT- μ -SPE é uma técnica que se encontra em expansão. As variações possíveis dos materiais de recheio (similares aos aplicados à SPE convencional), bem como as metodologias empregadas são bem interessantes e merecem estudos mais aprofundados. Nesse sentido, já existem atualmente alguns trabalhos de revisão bibliográfica publicados abordando a técnica, mesmo que indiretamente.

HENNION (1999) publicou um trabalho relevante, que forneceu informações sobre as características da SPE, modo de interação, potencial e os desenvolvimentos recentes, dentre eles a PT- μ -SPE. Em primeiro lugar, os desenvolvimentos são dados em formatos, fases, automação, finalidade, alto rendimento e *set-up* de novos tipos de procedimentos. A ênfase é dada sobre a grande variedade de adsorventes para reter os analitos sobre uma vasta gama de polaridades. A automação completa da sequência de SPE com o seu acoplamento em linha com a cromatografia líquida seguida de vários modos de detecção também é abordada.

THEODORIDIS, KOSTER e JONG (2000) publicaram uma revisão cujo objetivo foi uma pesquisa com a aplicação de μ -SPE para a análise de amostras biológicas. Documentos sobre a análise de compostos biologicamente ativos são categorizados e revistos. O impacto da SPME em vários campos analíticos (toxicológico, forense, clínicos, bioquímicos, farmacêuticos e produtos naturais) é ilustrado. As principais características da μ -SPE e seus modos são brevemente descritos e aspectos importantes sobre a sua aplicação para a determinação de fármacos, drogas de abuso e compostos de interesse clínico e toxicológico

são considerados. A μ -SPE é comparada com outras técnicas de pré-tratamento de amostras. O potencial de μ -SPE e suas principais vantagens são demonstrados.

Já HYOTYLAINEN e RIEKKOLA (2008) abordam o pré-tratamento *on-line* e *off-line* de amostras líquidas utilizando metodologias de extração com adsorventes com análise por GC. Extração sortiva com barra de agitação (SBSE), extração em fase sólida (SPE), microextração em fase sólida e métodos assistidos de membrana são criticamente avaliados e a aplicabilidade de cada técnica é demonstrada com exemplos.

KATAOKA et al. (2009) avaliaram técnicas de microextração empregando capilares no preparo de amostras. Aprisionamento de tubulares abertos, microextração em fase sólida (SPME) em tubo, fio-em-tubo de μ -SPE, extração em fase sólida de fibra-em-tubo, capilar cheio de sorvente em-tubo de μ -SPE e capilar monolítico em-tubo μ -SPE são criticamente avaliados e aplicações dessas técnicas em produtos biológicos, farmacêuticos, análises ambientais e alimentares são resumidos.

Há um grande contraste entre a análise cromatográfica e preparo de amostras convencional, que demanda trabalho intensivo. No trabalho publicado por NOVÁKOVÁ e VLCKOVÁ (2009), técnicas de preparo de amostras, incluindo SPE, LLE, precipitação de proteínas e muitas abordagens (μ -SPE) são apresentadas e descritas como fundamentais e passo crítico dos métodos bio-analíticos.

KELLER-ENGHOLM e LARSEN (2011) estudaram a afinidade cromatográfica do dióxido de titânio como quimio-adsorvente em diferentes técnicas de extração. RAMOS (2012) forneceu uma visão geral dos desenvolvimentos mais relevantes e abordagens bem-sucedidas propostas em matéria de preparo de amostras. Ênfase é dado sobre as técnicas e abordagens que já demonstraram a sua viabilidade por meio da análise de amostras reais, e em particular sobre aquelas que lidam com a determinação dos componentes orgânicos em baixas concentrações. O potencial dos mais recentes desenvolvimentos nesta área para simplificação do tratamento de amostra e hifenização completa e integração do processo analítico é discutido e as principais limitações avaliadas.

SPIETELUN et al. (2013) discutiram as informações sobre as soluções metodológicas e instrumentais em relação a diferentes variantes de técnicas de SPE, incluindo aplicações práticas destas técnicas e uma discussão crítica sobre as suas vantagens e desvantagens. Por fim, VUCKOVIC (2013) resume desenvolvimentos dos dispositivos de SPE, como fases de extração monolíticas e biocompatíveis. As aplicações selecionadas da

técnica, incluindo a análise de amostras de sangue total e estudos de ligação automatizadas, são apresentados.

Como observado, a PT- μ -SPE é tema em um considerável número de trabalhos de revisão. Não obstante a isso, há também seu emprego em diversas metodologias analíticas. Assim, foi realizada também uma busca detalhada para obtenção dos trabalhos publicados envolvendo a aplicação da PT- μ -SPE, agrupados aqui por material de recheio empregado.

1.4.1. C_{18} como material de recheio

O emprego de C_{18} como material adsorvente esteve presente em um grande número de estudos, uma vez que a sílica além de ser um material mais comum, pode ser facilmente adquirida e gera resultados satisfatórios. Na **Tabela 1** podem ser observados alguns dados relevantes sobre os estudos encontrados envolvendo o C_{18} como material adsorvente em μ -SPE adaptada em ponteira.

Tabela 1. Dados relevantes acerca dos estudos encontrados empregando C_{18} como material adsorvente em μ -SPE adaptada em ponteira.

Analitos	Matriz	Técnica de análise	Recuperação	Faixa linear	LOD	Ref
Lidocaína e diazepam	Padrão	GC/MS	-	-	-	HOUT, ZEEUW e JONG (1999)
Lidocaína e diazepam	Plasma	GC/MS	80%	-	0,75 e 2,5 ng/mL	HOUT, TAMA e HAYES (2001)
Posaconazol	Plasma de rato	HPLC/MS/MS	>95 %	10-10000 ng/mL	-	SHEN et al. (2006)
Mequitazina	Plasma	GC/MS	>90 %	0,2-200 ng/mL	0,05 ng/mL	KUMAZAWA et al. (2006)
Metanfetamina e anfetamina	Urina	GC/MS	>78,2 %	0,25-200 ng/mL	0,04 e 0,05 ng/mL	KUMAZAWA et al. (2007)
POPs	Tecido	GC/MS	-	1,25-50 ng/g	0,002-0,009 ng/g	BASHEER et al. (2008)
Histamina	Madeira	LC/ESI/MS/MS	83,8-91 %	0,01-4,00 μ M	0,3 ng/mL	KOYAMA et al. (2009)
Dimemorfanol	Plasma	GC/MS	83 %	0,25-32 ng/L	0,125 ng/L	HASEGAWA et al. (2012)
Bifenilospoliclorados	Tecido	GC/ITD/MS/MS	83-123 %	5-1000 ng/g	2-152 pg/g	PENA-ABAUURREA, TORRE e RAMOS (2013)
Pricoside I, II e III	extratos de ervas de <i>Picrorhizascrophulariiflora</i>	UPLC/MS/MS	87,2-98,2	100-1000 ng/mL	2,4-8,0 ng/mL	SHEN et al. (2013)
Peptídios	Plasma	MALDI/TOF MS	84,5-92,3 %	-	-	ZHU et al. (2013)
Proteínas	Veneno de abelhas	nano-LC/MALDI/TOF/TOF/MS	-	-	-	MATYSIAK et al. (2014)
THC-COOH, THC, THC-OH, CBD, CBN	Urina	LC/MS/MS	80 %	500-2500 ng/mL	2-4 ng/mL	MONTESANO et al. (2014)
Proteínas	Urina	LC/ESI/MS	-	50-5000 ng/mL	0,3-0,8 ng/mL	WANG et al. (2014)
Flavonóides	Soro de ratos	HPLC/DAD	98,63-103,18 %	0,05-10,0 ng/mL	-	WANG et al. (2015)

Analisando os dados da **Tabela 1** nota-se uma preferência pela aplicação das metodologias desenvolvidas com C₁₈ como material adsorvente em fluidos biológicos e análise por cromatografia líquida e gasosa. Os analitos mais empregados são os fármacos e as recuperações obtidas estão acima de 80 %, tendo as faixas lineares e LODs em sua maioria, na faixa de ng.

Um estudo diferenciado dos demais e que merece destaque foi o realizado por MATYSIAK et al. (2014). Além de inédito, o trabalho é de grande relevância científica e muito completo. Nele, os autores exploraram o proteoma do veneno de abelhas, utilizando diferentes estratégias de enriquecimento. Os estudos foram conduzidos com o emprego do sistema nano-LC-MS. Como resultado, 11 dos 12 conhecidos alérgenos presentes no veneno de abelhas africanizadas foram reconhecidos e 4 novas proteínas, até agora descaracterizadas foram identificadas. Pesquisas de similaridade foram realizadas a fim de investigar relações biológicas e homologia entre sequências de proteínas recentemente identificadas de *Apis mellifera* e outros *Hymenoptera*.

Atualmente, uma grande preocupação são os assuntos relacionados à saúde, principalmente no que se diz respeito à incidência de tumores pelo emprego de pesticidas na produção dos alimentos em grande escala. Assim, um trabalho muito interessante também foi o realizado por BASHEER et al. (2008), em que houve a determinação poluentes orgânicos persistentes (POPs) em amostras de tecido. A técnica envolveu a utilização de digestão assistida por microondas (MAD) e μ -SPE, com análise por GC-MS. Os POPs estudados incluíram onze pesticidas organoclorados e cinco bifenilospoliclorados congêneres. Um estudo preliminar com aplicação do procedimento MAD-SPE na análise de tecido de cancro do ovário humano mostrou sua capacidade de detectar a presença de um largo espectro de diferentes POPs em tumores benignos e malignos.

1.4.2. *Polímeros como material de recheio*

O emprego de polímeros como material adsorvente em μ -SPE adaptada em ponteira foi realizado por diferentes métodos.

Na **Tabela 2** podem ser observados alguns dados relevantes acerca dos estudos encontrados empregando polímeros como material adsorvente em μ -SPE adaptada em ponteira.

Tabela 2. Dados relevantes acerca dos estudos encontrados empregando polímeros como material adsorvente em μ -SPE adaptada em ponteira.

Analitos	Matriz	Tipo de polímero	Técnica de análise	Recuperação	Faixa linear	LOD	Ref
Trazodona	Plasma	Polímero de nanofibras	HPLC/UV	94,6-105,5 %	20-2000 ng/mL	8 ng/mL	KANG et al. (2007)
Proteínas	Fluidos Biológicos	Polietersulfona	MALDI/TOF/MS	-	-	-	CALVANO et al. (2010)
Pesticidas e fungicidas	Frutas e vegetais	Estireno divinilbenzeno	HPLC/MS	72-116 %	0,1-2,00 μ g/mL	<0,1 μ g/mL	GUAN et al. (2010)
Pirimidicarb	Tomate e pêra	MIP	HPLC/DAD	99,5-105,3 %	2,00-1400 μ g/kg	0,6 μ g/kg	ZHOU et al. (2010)
proteínas	Matrizes complexas	Monólitos	HPLC	95%	-	-	AWAEL et al. (2011)
Ofloxacino, pefloxacino, norfloxacino, ciprofloxacino e enrofloxacino	Ovos	Microesferas molecularmente impressas	HPLC/UV	89,1-102,5 %	25-2500 μ g/Kg	0,53-1,07 μ g/Kg	LIU et al. (2013)
Sulfonamidas	Mel	poli-3,4-etilenodioxitiofeno	UPLC/MS	71,1-91,4 %	10-250 μ g/kg	0,5-4 μ g/kg	TIAN et al. (2013)
Berberina	Plasma e urina	MIP	HPLC/UV	90,6-103,2 %	3-800 ng/mL	1,00 ng/mL	ZHANG e CHEN (2013)
ácido indol-3-propiónico, ácido indol-3-butírico e ácido 1-naftalenoacético	Suco de mamão	Óxido de grafeno/polipirrol	HPLC/UV	89,4-105,6 %	16,3-812,5 ng/g	1,2-1,7 ng/g	WANG et al. (2014)
Dicofol	Aipo	MIP	GC/ECD	86,6-101,9 %	2,3-232,5 ng/g	0,06-0,19 ng/g	YAN et al. (2014)
Difenoconazol	Água da torneira e suco de fruta	MIP	HPLC/UV	87,6-95,4 %	1-1000 μ g/L	0,5 μ g/L	DU et al. (2014)
Dicofol	Aipo	Polímero não impresso por líquido iônico	GC/ECD	86,6-101,9 %	2,3-232,5 ng/g	0,06 ng/g	YAN et al. (2014)
metomil	Amostras aquosas	MIM	HPLC/UV	84,9-105,1 %	0,6-1000 μ g/L	0,2 μ g/L	DU et al. (2014)
Cianazina e atrazina	legumes	Híbrido de sol-gel	HPLC/UV	87,6-93,8 %	0,022-1,65 mg/g	3,5-5,2 μ g/Kg	WANG et al. (2015)

Analisando os dados da **Tabela 2**, percebe-se que à revelia do ocorrido pelo emprego de C_{18} como material adsorvente, com o uso de polímeros houve preferência de aplicação das metodologias em alimentos. Os analitos mais utilizados também foram os fármacos e a técnica analítica mais empregada foi a HPLC. As faixas lineares e LODs obtidos foram em sua maioria na faixa de ng.

Tal como no caso de C_{18} como material adsorvente, houve aqui também uma preocupação com a contaminação de alimentos por fungicidas e inseticidas empregados na produção em larga escala. Dentre os estudos realizados para este fim, um relevante tanto pela

matriz empregada quanto pela forma de extração dos compostos foi o de LIU et al. (2013). Nele, foram desenvolvidas microesferas molecularmente impressas compatíveis com a água para a extração rápida e identificação de ofloxacino, pefloxacino, norfloxacino, ciprofloxacino e enrofloxacino em ovos. Por meio de comparação com os métodos convencionais de SPE, o método desenvolvido foi rápido, fácil e reprodutível.

1.4.3. Materiais de carbono como materiais de recheio

Os materiais de carbono também foram empregados em um considerável número de estudos. Na **Tabela 3** podem ser observados alguns dados relevantes acerca dos estudos encontrados envolvendo materiais baseados em carbono como material adsorvente em μ -SPE adaptada em ponteira.

Tabela 3. Dados relevantes acerca dos estudos encontrados empregando materiais de carbono como material adsorvente em μ -SPE adaptada em ponteira.

Analitos	Matriz	Técnica de análise	Recuperação	Faixa linear	LOD	Ref
Toxinas marinhas	Marisco	UPLC/MS/MS	44,66-96,32 %	0,5-200 ng/mL	1,5 μ g/kg	SHEN et al. (2013)
Sulfonamidas	Amostras ambientais	HPLC/FD	90,4-108,2 %	2-4000 pg/mL	0,5 pg/mL	SUN et al. (2014)
Sulfonamidas	Leite bovino	HPLC/UV	90,1-113,5 %	0,05-6,0 μ g/g	0,004-0,012 μ g/g	YAN et al. (2014)
Chumbo	Cabelo	Absorção atômica	94,6-105,5 %	20	8 ng/mL	JALBANI e SOYLAK, (2014)
DPX	Frutas	LC/MS/MS	94-109%	20	-	PODHORNIK (2014)
Cádmio	Amostras ambientais e biológicas	Absorção atômica	72-116 %	0,1-2,00 μ g/mL	<0,1 μ g/mL	PANHWAR et al. (2015)

Analisando os dados da **Tabela 3**, observa-se que tanto os analitos quanto as matrizes empregadas foram bem variados, tendo havido preferência pela análise por cromatografia líquida. As recuperações foram adequadas, sendo as menores obtidas por SHEN et al. (2013). As faixas lineares e LODs em sua maioria foram na faixa de ng.

Devido à grande preocupação atualmente pela contaminação do ambiente e seres vivos por metais pesados, outro estudo interessante foi o realizado por JALBANI e SOYLAK, (2014). Nele, desenvolveu-se uma ponteira empacotada com nanotubos de carbono acoplada à espectrometria de absorção atômica com chama para extração para determinação de chumbo em amostras de cabelo. Sob condições ótimas, quatro parâmetros tais como o pH, o volume

de amostra, a quantidade de sorvente e concentrações de eluente foram otimizados. O procedimento foi aplicado em amostras de água e cabelo.

Da mesma forma, PANHWAR et al. (2015) também abordaram a contaminação por metais pesados, só que neste caso com aplicação em amostras ambientais e biológicas. No estudo, houve determinação da pré-concentração de cádmio, seguido de análise pela técnica de absorção atômica. A influência de diferentes variáveis na eficiência de extração foi testada, incluindo dosagem do adsorvente, o pH, o volume da amostra, volume de eluente e desenho/descarga dos ciclos do sistema de seringa.

1.4.4. Outros materiais de recheio

Foram encontrados dois estudos envolvendo materiais adsorventes diferenciados. Na **Tabela 4** podem ser observados alguns dados relevantes acerca dos estudos encontrados empregando outros materiais adsorventes.

Tabela 4. Dados relevantes acerca dos estudos encontrados empregando outros materiais como material adsorvente em μ -SPE adaptada em ponteira.

Analitos	Matriz	Material adsorvente	Técnica de análise	Recuperação	Faixa linear	LLOD	Ref.
Peptídeos	-	Mistura de adsorventes	HPLC/MALDI/TOF/MS	65-70 %	0,5-200 ng/mL	1,5 μ g/kg	ERDJUMENT-BROMAGE et al. (1998)
Enantiômeros cis-cetoconazol	Urina	Filtro de cigarro	HPLC/DAD	100,74-106,9 %	12,5-400 pg/mL	6,25 pg/mL	ANDRADE et al. (2015)

Analisando os dados da **Tabela 4**, infere-se que dentre os dois estudos encontrados envolvendo outros materiais adsorventes, no realizado por ANDRADE et al. (2015) obteve-se menores LODse faixa linear, além de maiores recuperações. Nele, foi desenvolvido um método enantiosseletivo para a determinação de *cis*-enantiômeros do cetoconazol por HPLC/DAD em urina humana. A utilização potencial de ponteira empacotada com filtro de cigarro para a extração dos enantiômeros foi estudada e, a fim de encontrar um procedimento adequado para extração, vários parâmetros incluindo o solvente de lavagem, o tipo e o volume de eluente, o pH, a quantidade de material, o volume da amostra e a força iônica foram otimizados. Os critérios de desempenho para linearidade, sensibilidade, precisão, exatidão, recuperação, robustez e estabilidade foram avaliados e estavam dentro do recomendado.

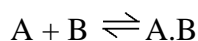
Aplicou-se o método com sucesso numa urinária cumulativa preliminar. O estudo é de grande importância científica, pois além de empregar análise enantiosseletiva, utiliza também um aparato de extração com material alternativo (filtros de cigarros) até então nunca empregado.

1.5. Adsorção de Materiais

A adsorção é um processo físico-químico em que o componente em uma fase gasosa ou líquida é transferido para a superfície de uma fase sólida. Os componentes que se unem à superfície são chamados adsorvatos, enquanto que a fase sólida que retém o adsorvato é denominada adsorvente. A remoção das substâncias a partir da superfície é chamada dessorção.

A migração destes componentes de uma fase para outra tem como força motriz a diferença de concentrações entre o seio do fluido e a superfície do adsorvente. Como o adsorvato concentra-se na superfície do adsorvente, quanto maior for esta superfície, maior será a eficiência da adsorção (CLARK, 2010)

A adsorção pode ser representada como uma reação química:



Onde A é o adsorvato, B é o adsorvente e A.B é o composto adsorvido.

Os compostos permanecem adsorvidos na superfície do adsorvente pela ação de forças químicas, tais como: Ligações de hidrogênio, interações dipolo-dipolo e forças de London. Existem basicamente dois tipos de adsorção: a física e a química. Contudo, em certos casos os dois tipos podem ocorrer simultaneamente (CLARK, 2010).

A adsorção física ocorre por uma diferença de energia e/ou forças de atração, que tornam as moléculas fisicamente presas ao adsorvente. Já a adsorção química, corresponde a uma interação de tipo químico, em que os elétrons de enlace entre as moléculas e o sólido experimentam rearranjo e os orbitais mudam de forma, como em uma reação química (CLARK, 2010).

1.5.1. Cinética em processos de adsorção

Para entender corretamente um processo de adsorção e dessorção, deve-se compreender dois princípios básicos: equilíbrio e cinética. Com relação aos processos de adsorção/dessorção, dados termodinâmicos só fornecem informações sobre o estado final de um sistema, mas cinética trata de alterações nas propriedades químicas no tempo e se preocupa especialmente com taxas de variação. O conhecimento da cinética de adsorção é de interesse para muitos aspectos da química de superfície, a partir de compreensão dos mecanismos de adsorção/dessorção de mais problemas práticos, tais como catalisadores, corrosão e remoção dos componentes de poluentes a partir de soluções (AZIZIAN, 2004).

O processo de sorção pode ser descrito pelos seguintes passos consecutivos: (i) transporte de soluto no seio da solução; (ii) a difusão de soluto através da chamada película líquida circundante; (iii) a difusão de soluto no líquido contido nos poros das partículas de sorbato e ao longo das paredes dos poros (difusão intra-partícula); (iv) adsorção e dessorção de moléculas de soluto em/a partir da superfície do adsorvente. A taxa global de sorção pode ser principalmente controlada por qualquer um destes passos; um efeito combinado de alguns passos também é possível. Em muitos sistemas experimentais de sorção o efeito de transporte na solução é eliminado por rápida agitação mecânica e, portanto, não é considerado como estando envolvido no controle da taxa global de sorção e pode ser ignorado. A fim de determinar a contribuição dos passos restantes, vários modelos cinéticos foram desenvolvidos para prever o comportamento dos dados experimentais (PLAZINSKI; RUDZINSKI; PLAZINSKI, 2009).

Partindo-se desse pressuposto, destacam-se principalmente os modelos cinéticos de pseudo-primeira ordem ou modelo cinético de Lagergren, pseudo-segunda ordem, equação Elovich e difusão intra-partícula, ou modelo cinético Morris-Weber.

1.5.1.1. Pseudo-primeira ordem

Também chamado de modelo cinético de Lagergren, descreve a taxa de adsorção com base na capacidade de adsorção e a aproximação do número de sítios de adsorção desocupados e admite que estes modelos são descritos por adsorção física.

A **Equação 1** apresenta este modelo na sua forma final (HO, 2004; HO, 2006).

$$\ln(q_e - q_t) = \ln(q_e) - k_1 \cdot t \text{ (1)}$$

Em que q_e e q_t são a quantidade de composto adsorvido no estado de equilíbrio (mg g^{-1}) e em qualquer instante t (min); k_1 é a constante de velocidade (min^{-1}). Os valores de K_1 e q_e podem ser obtidos a partir de y-intercepto e inclinação, respectivamente, do plot de $\ln(q_e - q_t)$ vs. t (HO; MCKAY, 1998; RUDZINSKI; PLAZINSKI, 2007).

1.5.1.2. Pseudo Segunda ordem

O Modelo é baseado na noção de que a adsorção deve relacionar-se ao produto do quadrado da diferença entre o número de sítios de equilíbrio de adsorção disponíveis no adsorvente e os locais ocupados. Além disso, o analito pode se ligar a dois locais ativos com diferentes energias de ligação e assume que o passo limitante da velocidade é quimissorção e prevê o comportamento ao longo de toda a gama de adsorção (RUDZINSKI, PLAZINSKI, 2007). Este modelo, na sua forma final, pode ser expresso como se segue na **Equação 2**.

$$\frac{1}{q_t} = \frac{1}{(k_2 \cdot q_e)} + \frac{t}{q_e} \text{ (2)}$$

Em que q_e e q_t são a quantidade de íons adsorvidos em equilíbrio (mg g^{-1}) e no tempo t (min); k_2 ($\text{g mg}^{-1} \text{ min}^{-1}$) é a constante da taxa de pseudo segunda ordem para o processo de adsorção. q_e e k_2 podem ser obtidos a partir dos valores inversos de interseção y e inclinação, respectivamente, do plot de t/q_t vs. t (HO; MCKAY, 1998; HO; MCKAY, 2000)

1.5.1.3. Elovich

De forma semelhante ao pseudo-segunda ordem, também assume que a superfície do adsorvente é energeticamente heterogênea e considera o processo de adsorção da natureza química (HO; MCKAY, 2000). Além disso, o aumento do local de adsorção é um processo que implica uma adsorção multicamada.

O modelo de Elovich é definido pela **Equação 3**.

$$q_t = \frac{1}{\beta} \ln(\alpha \cdot \beta) + \frac{1}{\beta} \cdot \ln t \text{ (3)}$$

Em que q_t (mg g^{-1}) é a concentração de íons adsorvidos no tempo t (min); α ($\text{mg g}^{-1} \text{ min}^{-1}$) é a taxa de adsorção inicial; β (g mmol^{-1}) é a constante de dessorção. O plot de q_t vs. $\ln t$ resulta na determinação das constantes cinéticas α e β , pelos valores de inclinação e y-interseção, respectivamente (BAYO; NOGALES; ROMERO, 2008; RUDZINSKI; PANCZYK, 2000; WU; TSENG; JUANG, 2009)

1.5.1.4. Difusão intra-partícula

Ou modelo cinético Morris-Weber, também foi utilizado para descrever matematicamente a cinética de adsorção, em que o processo é influenciado pelo fenômeno de difusão. Além disso, tem sido amplamente utilizado para verificar a influência da resistência à transferência de massa sobre a ligação do analito ao adsorvente. Este modelo é representado pela **Equação 4**.

$$q_t = k_d \cdot t^{1/2} + C \text{ (4)}$$

Em que q_t (mg g^{-1}) é a concentração de íons adsorvidos em qualquer instante t (min), e K_d ($\text{mg g}^{-1} \text{ min}^{-1/2}$) pode ser calculada a partir do declive do gráfico linear de q_t vs $t^{1/2}$. O valor de C (mg g^{-1}) é calculado a partir da interseção de y, e dá uma idéia da espessura da camada limite. Quando C está perto de zero, a taxa de adsorção é dependente da difusão intra-partícula (RUDZINSKI; PLAZINSKI, 2008; WEBER; MORRIS, 1963; WU; TSENG; JUANG, 2009).

1.5.2. *Isotermas de adsorção*

A isoterma de adsorção é a relação de equilíbrio entre a concentração na fase fluida e a concentração nas partículas adsorventes a uma dada temperatura. Para gases, a concentração é dada em porcentagem molar como uma pressão parcial. Para líquidos, a concentração geralmente é expressa em unidade de massa. A concentração do adsorvido no sólido é dada como massa adsorvida por unidade de massa do adsorvente.

Há diversos modelos de isotermas de adsorção, dentre os quais merecem destaque as de Langmuir, Freundlich, Sips, Single Site Langmuir-Freundlich e Dual Site Langmuir-Freundlich.

1.5.2.1. Langmuir

Talvez o modelo não-linear isotérmico mais simples, e foi desenvolvido originalmente para o processo de adsorção em uma única camada de soluto sobre a superfície de um sorvente. Assim, este modelo descreve a adsorção de um adsorvido sobre uma superfície adsorvente homogênea e cada local de adsorção pode ser ocupado apenas uma vez. Pode ser representado pela **Equação 5**, como segue:

$$q_e = \frac{Q \cdot K_L \cdot C_{eq}}{(1 + K_L \cdot C_{eq})} \quad (5)$$

Em que q_e é a quantidade de íons adsorvidos na superfície do material (mg g^{-1}); C_{eq} é a concentração de equilíbrio na solução (mg L^{-1}); Q é a constante na capacidade máxima de adsorção (mg g^{-1}) e K_L constante de adsorção Langmuir (L mg^{-1}) (ERTL, 1994; LANGMUIR, 1961).

1.5.2.2. Freundlich

Foi desenvolvido para ser consistente com a distribuição exponencial de centros ativos, característica de superfícies heterogêneas, matematicamente descrita como segue na **Equação 6**.

$$q_e = K_F \cdot C_{eq}^{\frac{1}{n}} \quad (6)$$

Em que K_F é a constante para a capacidade de adsorção e n é a constante para a intensidade de adsorção ou grau de adsorção, o qual varia de acordo com a heterogeneidade do material (FREUNDLICH, 1906; WEBER; MCGINLEY; KATZ, 1991).

1.5.2.3. Sips

Combina os modelos de Langmuir e Freundlich, e supõe que as interações podem ocorrer com diferentes afinidades. Espera-se que Sips descreva de melhor forma superfícies heterogêneas. Em baixas concentrações do analito se reduz a uma isoterma de Freundlich, enquanto que em concentrações elevadas leva ao modelo Langmuir. O modelo de Sips assume a forma da **Equação 7**.

$$q_e = \frac{Q \cdot K_S \cdot C_{eq}^n}{1 + K_S \cdot C_{eq}^n} \quad (7)$$

1.5.2.4. Single Site Langmuir-Freundlich

Corresponde a uma segunda forma de representar Sips (**Equação 8**).

$$q_e = \frac{K_1 \cdot Q_1 \cdot C_{eq}}{(1 + K_1 \cdot C_{eq})^n} \quad (8)$$

1.5.2.5. Dual Site Langmuir-Freundlich

Supera algumas limitações dos modelos Single Site e Sips, como a heterogeneidade dos locais de fase sólida no processo de adsorção. Assim, assume que a adsorção pode ocorrer tanto em sítios homogêneos como sítios heterogêneos de um composto.

Dual-site de Langmuir-Freundlich é representada pela **Equação 9**.

$$q_e = \frac{(Q_1 \cdot (K_1 \cdot C_{eq})^{n_1})}{1 + (K_1 \cdot C_{eq})^{n_1}} + \frac{(Q_2 \cdot (K_2 \cdot C_{eq})^{n_2})}{1 + (K_2 \cdot C_{eq})^{n_2}} \quad \text{(9)}$$

1.5.3. *Trabalhos empregando estudos de adsorção para sulfóxido de albendazol*

Após uma busca detalhada de periódicos, não foram encontrados trabalhos envolvendo estudos de adsorção para o ABZSO. Tal fato ressalta ainda mais a importância da realização desses estudos, bem como de trabalhos que utilizem μ -SPE adaptada em ponteira e preparo de amostras, pois para estes também não há publicações que envolvam o ABZSO e MIPs. Dessa forma, serão obtidos estudos relevantes no que se diz respeito à química analítica.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivos Gerais

- Síntese e caracterização de um MIP (orgânico/híbrido) para emprego na PT-MIPs- μ -SPE e análise enantiosseletiva de ABZSO em urina por HPLC/DAD e posteriores estudos de isotermas e cinéticas de adsorção do ABZSO nos materiais sintetizados.

2.2. Objetivos Específicos

- Otimização das condições de análise enantiosseletiva do ABZSO por HPLC/DAD, avaliando diferentes parâmetros, tais como: diferentes solventes na fase móvel, pH, temperatura, colunas, vazão, comprimentos de onda, volumes de injeção;
 - Síntese de MIP e NIP para a análise do ABZSO;
 - Caracterização dos materiais sintetizados empregando as técnicas Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), termogravimetria (TG) e microscopia eletrônica de varredura (MEV);
 - Desenvolvimento de um dispositivo *in lab* para realizar o método de extração.
 - Otimização do método de extração do ABZSO em urina por PT-MIPs- μ -SPE avaliando diferentes parâmetros, tais como: quantidade de material adsorvente, volume de amostra, volume de solvente, força iônica da amostra (urina), pH da amostra (urina), solvente de lavagem e solvente de eluição;
 - Realização de estudos de adsorção com os materiais sintetizados em solução aquosa, avaliando diferentes parâmetros, tais como: pH, isotermas e cinética de adsorção.
-
-

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Materiais

3.1.1. Reagentes e solventes

Todos os reagentes e solventes empregados na fase móvel e no preparo de amostras foram de grau P.A e grau HPLC respectivamente. O etanol, metanol e acetonitrila foram adquiridos da J. T. Baker[®] (Cidade do México, México). Já o clorofórmio foi adquirido da Tedia[®] (Fairfield, EUA). A água empregada para o preparo de amostra e estudos de adsorção foi água ultrapura obtida do Sistema MILLI-Q PLUS[®] - Millipore/Millipore Corporation (Bedford, EUA).

O tetraetilortosilicato (TEOS) foi adquirido da Merck[®] (Berlim, Alemanha) e o dimetilsulfóxido (DMSO) e o ácido acético da Vetec[®] (Duque de Caxias, Brasil). Já o 3-(trimetóxisilil)propil metacrilato (TRIM), o ácido metacrílico (MAA) e o ácido acético foram obtidos da Sigma Aldrich[®] (São Paulo, Brasil). O 4-4'-azobis(acido 4-cianovalérico) (AZO) foi obtido da Santa Cruz Biotechnology[®] (Santa Cruz, EUA). O ácido clorídrico e o hidróxido de sódio foram adquiridos da Synth[®] (Diadema, Brasil). O cloreto de sódio utilizado para o estudo do efeito da força iônica foi obtido da Qhemis[®] (Indaiatuba, São Paulo).

3.1.2. Soluções-Padrão

Foi empregado um padrão secundário do ABZSO referência United States Pharmacopeia- USP 98,00% p/p. O ABZSO foi preparado com pesagem de 10,2 mg do fármaco e diluição em metanol para obtenção de uma concentração de 1mg/mL, para posterior diluição no decorrer do desenvolvimento do trabalho. As soluções preparadas foram estocadas a -20°C sob a ausência de luz.

3.1.3. Equipamentos

Todas as análises do estudo foram realizadas em um cromatógrafo Agilent[®] (Santa Clara, CA, EUA), composto por uma bomba quaternária modelo 1260 (G1311 B), termostato (G1330 B), injetor automático modelo 1260 Hip ALS (G1367 E) e um detector por arranjo de

diodos (DAD) modelo 1260 VL+ (G1315 C). Os dados foram coletados e analisados pelo *software* AgilentOpenLABChromatography Data System[®] (CDS) (Santa Clara, CA, EUA). Para a separação cromatográfica enantiosseletiva do ABZSO foram avaliadas duas colunas quirais: Chiralpak[®] IA-3 (100 × 4,6 mm, 3 μm) e Chiralpak[®] IB (100 × 4,6 mm, 5 μm), ambas protegidas com coluna de guarda C12 Phenomenex[®] AJP-6074 (4 × 3,0 mm), bem como uma coluna Agilent[®] Eclipseplus C₁₈ (100 × 4,6 mm, 3,5 μm). Para as pesagens realizadas no decorrer da pesquisa, empregou-se uma balança semi-analítica Sartorius AG Extend, ED2245 (São Bernardo do Campo-SP). Para os procedimentos de diluição foi empregado um ultrassom (Unique, UltraCleaner800). Na caracterização dos materiais sintetizados foram utilizados um espectrômetro por transformada de Fourier (BomemHartmann&Braun, MB series, Quebec, Canadá), uma termobalança (2950 ThermalAnalysisInstrument, TA Instrument, New Castle, DE, EUA) e um Microscópio TM3000 Hitachi Analítica Table Top. Para os procedimentos de aferição e adequação de pH foi empregado um pHmetro HANNA instruments, HI2221 CalibrationCheck pH/ORP Meter (Tamboré -SP). Já na agitação das amostras no procedimento de adsorção utilizou-se uma incubadora Tecnal Equipamentos para laboratório LTDA, TE-420 (Piracicaba-SP). Para agitação de tubos no preparo de amostras foi utilizado um Vortex IKA laboratoryequipments, MS3 Basic. Na síntese dos materiais e secagem dos solventes no decorrer da otimização do preparo de amostras em urina enriquecida, utilizou-se uma estufa para secagem e esterilização De Leo equipamentos laboratoriais (Porto Alegre, RS). Na separação de fases, foi utilizada uma centrífuga (Daiki, 80-2B). Por fim, para o aquecimento controlado da urina na hidrólise empregou-se um Banho Maria Dig. ROT 8 BC, LS8BD-220 LogenScientific.

3.2. Métodos

3.2.1. Síntese do MIP e NIP

Inicialmente foram pesados cerca de 22,0 mg do ABZSO, com posterior transferência para um frasco apropriado ao qual foi adicionada uma solução de clorofórmio : DMSO (3 : 1, v/v: com a mistura de 5,25 mL de clorofórmio e 1,75 mL de DMSO) que foi sonicada em ultrassom por 1 min. Adicionou-se cerca de 5 mL de MAA (monômero funcional) ao frasco e a mistura foi agitada em ultrassom por 10 min. Posteriormente, adicionou-se mais 1 mL de TRIM e 2 g de AZO.

Preparou-se uma solução com 2 mL de TEOS, 7 mL da solução de clorofórmio : DMSO e 2 mL de HCl 3 %. Para o preparo da solução de HCl, adicionaram-se 300 µL do HCl grau P.A a um balão volumétrico de 10 mL e completou-se o volume até o menisco com água ultrapura. Finalmente, adicionou-se a solução composta por TEOS, clorofórmio, DMSO e HCl ao frasco, gota a gota, sob ação do ultrassom por 25 min. O frasco foi lacrado e levado a estufa por 24 h a 80°C.

O MIP obtido foi triturado com o auxílio de almofariz e pistilo e lavado com uma solução de metanol : ácido acético (9 : 1, v/v) até a retirada do ABZSO, que foi comprovada pela não detecção dos analitos por HPLC/DAD, e posteriormente com metanol, para a retirada do ácido acético. O material foi seco em estufa a 65°C por 48 h e tamisado em peneira apropriada, com tamanho de partícula de até 100 mesh.

Já o NIP foi sintetizado da mesma forma que o MIP, contudo sem o emprego da molécula molde. Assim, não foi necessária lavagem do material, sendo este apenas tamisado.

3.2.2. *Caracterização do MIP e NIP sintetizados*

Análises de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR) foram realizadas utilizando um espectrômetro por transformada de Fourier operando entre 4000 e 400 cm^{-1} , à resolução de 4 cm^{-1} , por meio do método convencional (pastilha de KBr). As análises termogravimétricas (TGA) foram realizadas em uma termobalança com uma taxa de aquecimento de 10 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$, sob fluxo de nitrogênio (50 mL min^{-1}) de 25 a 600 $^{\circ}\text{C}$. As imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV) foram obtidas utilizando um Microscópio com aceleração de tensão variando entre -5 kV e 15kV.

3.2.3. *Otimização das Condições de Análise por HPLC/DAD*

Visando a otimização das condições de análise do ABZSO, foram avaliadas diferentes condições, com variação de temperatura, constituição e proporção da fase móvel, vazão e comprimento de onda. A solução padrão de ABZSO 1 mg/mL foi diluída em metanol para 40 µg/mL e analisada por HPLC/DAD. Inicialmente foi empregada a coluna Chiralpak[®] IB (100 × 4,6 mm, 5 µm) protegida com coluna de guarda C12 Phenomenex[®] AJP-6074

(4 × 3,0 mm). Posteriormente também foi testada a coluna Chiralpak[®] IA-3 (100 × 4,6 mm, 3 μm) com a coluna de guarda C12 Phenomenex[®] AJP-6074 (4 × 3,0 mm).

A coluna Chiralpak[®] IA-3, por fornecer melhores resultados, foi empregada como a coluna da condição otimizada. Contudo, devido à detecção de grande quantidade de interferentes provenientes da urina na análise cromatográfica durante o preparo de amostras, foi necessária uma nova otimização, desta vez empregando a coluna Chiralpak[®] IA-3 protegida com coluna de guarda C12 Phenomenex[®] AJP-6074 (4 × 3,0 mm) acoplada a uma coluna Agilent[®] Eclipse Plus C₁₈ (100 × 4,4 mm, 3,5 μm).

3.2.4. *Preparo da PT-MIPs-μ-SPE*

O MIP foi empacotado em ponteiros de pipetas (1000 μL de polipropileno), utilizando algodão desengordurado em ambas as extremidades, para evitar a perda do material adsorvente. Antes da extração, as ponteiros foram pré-tratadas com 500 μL de água ultrapura.

3.2.5. *Desenvolvimento e otimização do preparo de amostra*

Inicialmente, realizou-se a hidrólise das amostras de urina, a fim de retirar interferentes e impurezas que pudessem afetar a detecção dos enantiômeros do ABZSO. Foram adicionados 300 μL de ácido clorídrico 1 mol/L em 10 mL de urina, seguido de aquecimento em banho Maria por 60 min, ajuste para o pH apropriado com solução de NaOH 1 mol/L, centrifugação e retirada do sobrenadante. Para avaliar a aplicabilidade da PT-MIPs-μ-SPE empregando a HPLC/DAD para a separação e determinação dos enantiômeros do ABZSO foi necessário estudar vários fatores que podem afetar a eficiência da extração, tais como: os solventes de lavagem e de eluição, a quantidade de material, os volumes da amostra e do eluente, o pH e a força iônica da amostra (urina).

A solução estoque de ABZSO 1 mg/mL foi diluída em urina hidrolisada a fim de se obter uma concentração de 40 μg/mL para realizar os testes. As análises foram realizadas em triplicata, sendo que após a extração, houve secagem do eluente em estufa com posterior ressuspensão em metanol, seguido de análise por HPLC/DAD. Testou-se como condição inicial de extração 500 μL de água ultra-pura para condicionamento, 500 μL de amostra sem adição de sal e com pH 9, 20 mg de material, 300 μL de água como solvente de lavagem e

300 μL de metanol : ácido acético (9 : 1, v/v) como eluente. No decorrer do procedimento de otimização, as melhores condições avaliadas para cada parâmetro foram fixadas para as extrações posteriores, até que foi obtida uma condição de extração completamente otimizada. Como solvente de lavagem, foram testados água e hexano. Como eluente, testou-se metanol, etanol e acetonitrila, ambos com adição de 10% de ácido acético nos volumes de 200, 300, 400 e 500 μL . Na quantidade de material, foram empregados 10, 20 e 30 mg. Para otimização do volume de amostra, testou-se 250, 500 e 750 μL . Já no pH da amostra, foram testados pH 3,0; 7,5; 9,0 e pH 12,0. Para avaliação da força iônica, testou-se adição de 5, 10 e 20% de NaCl. Por fim, para fins comparativos, foram avaliados outros materiais (C_{18} e NIP) na condição de extração otimizada anteriormente, para comprovar a melhor capacidade de adsorção do MIP frente a outros materiais.

3.2.6. Estudos de adsorção

Amostras de água ultra pura foram enriquecidas com a solução estoque de ABZSO 1 mg/mL a uma concentração de 4 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Adicionou-se 5 mL dessas amostras a tubos Falcon[®] de 50 mL contendo cerca de 20 mg do MIP sintetizado. A mistura foi agitada por 30 min. e deixada em repouso. Posteriormente, o sobrenadante foi retirado e analisado em HPLC.

Para o estudo do pH ótimo de adsorção, variou-se o pH da água para pH 1,0, pH 3,0, pH 7,5, pH 9,0 e pH 12,0, com o emprego soluções de HCl e NaOH 1 mol/L.

Para o estudo da cinética de adsorção, variou-se o tempo de agitação para 5,0 min., 10,0 min., 15,0 min., 20,0 min., 30,0 min., 45,0 min., 60,0 min., 75,0 min. e 90,0 min.

Já para a obtenção das isotermas de adsorção, variou-se a concentração de ABZSO na solução aquosa para 2,0 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 4,0 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 8,0 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 16,0 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 32,0 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 64,0 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 128,0 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 156,0 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 200,0 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 312,0 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 624,0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ e 1248,0 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

Todos os testes de adsorção foram realizados em duplicata e após finalizar os estudos com o MIP, todo o processo foi repetido também para o NIP sintetizado.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Otimização do método de separação enantiosseletiva do ABZSO

Inicialmente foi empregada a coluna Chiralpak[®] IB (100 × 4,6 mm, 5 μm) protegida com coluna de guarda C12 Phenomenex[®] AJP-6074 (4 × 3,0 mm).

Utilizando-se o modo normal, com fase móvel apolar em comparação a fase estacionária, não foram obtidos bons resultados. Normalmente utiliza-se a proporção hexano : isopropanol (90 : 10, v/v) como condição inicial, para assegurar se há ou não a probabilidade de obtenção da separação satisfatória dos picos ou até mesmo a obtenção de uma separação parcial em fase normal. Caso fossem obtidos os picos, poder-se-ia utilizar modificadores orgânicos para melhorar a separação e até mesmo melhorar os tempos de eluição, ou também alterar as condições cromatográficas. Desta forma, foi realizada uma corrida cromatográfica de 60 min. sob tal condição, um tempo considerado muito elevado e inadequado para HPLC, uma vez que leva ao gasto um grande volume de solvente. Além disso, não foram obtidos picos, levando à exclusão da possibilidade do emprego de fase normal na coluna (**Figura 5**).

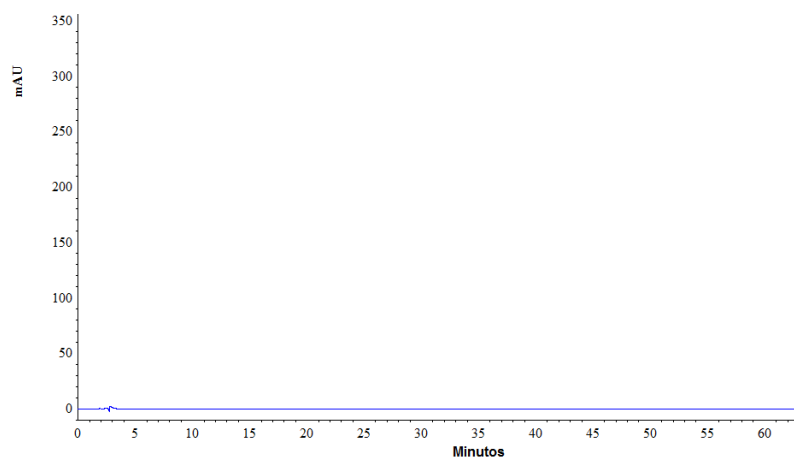


Figura 5. Cromatograma referente à análise do ABZSO com coluna Chiralpak[®] IB (100 × 4,6 mm, 5 μm) protegida com coluna de guarda C12 Phenomenex[®] AJP-6074 (4 × 3,0 mm), temperatura de 40°C, vazão de 1 mL/min, fase móvel composta por hexano : isopropanol (90 : 10, v/v), comprimento de onda de 210 nm, volume de injeção de 10 μL e concentração de 40 μg/mL.

Posteriormente, na mesma coluna foram estudados os modos polar orgânico e reverso, representados na **Figura 6**. Analisando os cromatogramas, percebe-se apenas a detecção de um pico com sinal elevado, o qual corresponde aos enantiômeros não separados. Assim, os modos reverso e polar orgânico foram também excluídos, pois a coluna Chiralpak[®] IB (100 × 4,6 mm, 5 μm) não foi adequada para a separação enantiosseletiva do ABZSO.

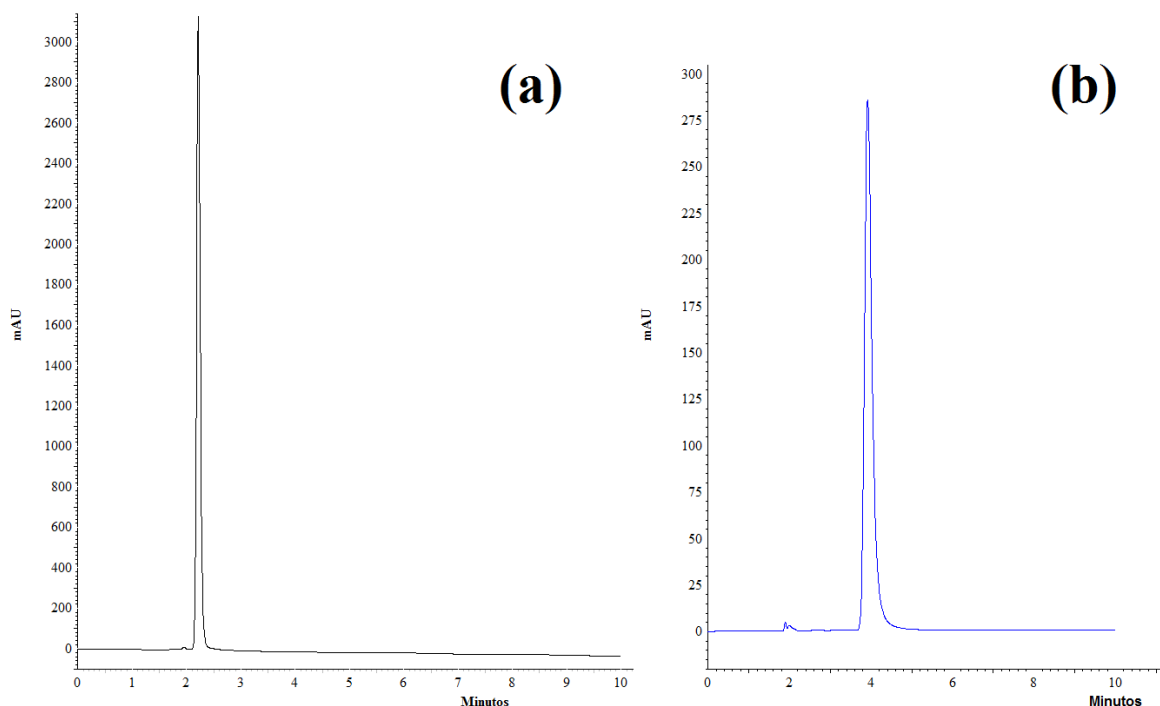


Figura 6.(a) Cromatograma referente à análise do ABZSO com coluna Chiralpak[®] IB (100 × 4,6 mm, 5 μm) protegida com coluna de guarda C12 Phenomenex[®] AJP-6074 (4 × 3,0 mm), temperatura de 40°C, vazão de 1 mL/min, fase móvel composta de 100% metanol, comprimento de onda de 210 nm, volume de injeção de 10 μL e concentração de 40 μg/mL. (b) Cromatograma similar à condição (a), contudo com fase móvel composta de água : metanol (80 : 20, v/v).

Já com relação à coluna Chiralpak[®] IA-3 (100 × 4,6 mm, 3 μm) com a coluna de guarda C12 Phenomenex[®] AJP-6074 (4 × 3,0 mm) os resultados foram bem mais adequados. Foram avaliadas diferentes condições, sendo que inicialmente foi empregado o modo normal. Tal como no caso da coluna Chiralpak[®] IB, não houve a obtenção de nenhum pico dentro de 60 min. (**Figura 7**).

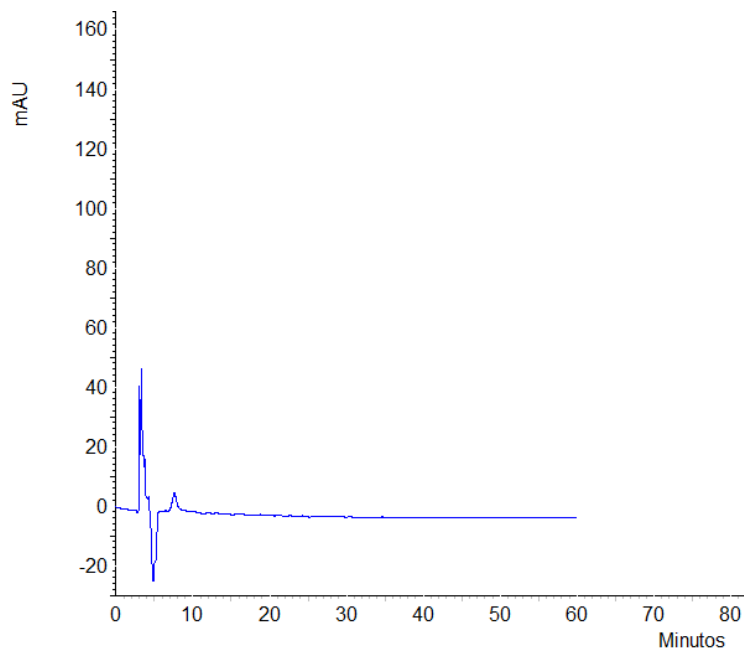


Figura 7. Cromatograma referente à análise do ABZSO com coluna Chiralpak[®] IA-3 (100 × 4,6 mm, 3μm) protegida com coluna de guarda C12 Phenomenex[®] AJP-6074 (4 × 3,0 mm), temperatura de 40°C, vazão de 1 mL/min, fase móvel composta por hexano : isopropanol (90 : 10, v/v), comprimento de onda de 210 nm, volume de injeção de 10 μL e concentração de 40μg/mL.

Posteriormente foi obtida uma condição bastante aceitável para a análise dos enantiômeros com fase móvel reversa. (**Tabela 5**).

Tabela 5. Condição aceitável para a análise dos enantiômeros do sulfóxido de albendazol.

Coluna	Chiralpak [®] IA-3 (100 × 4,6 mm, 3μm) protegida com coluna de guarda C12 Phenomenex [®] AJP-6074 (4 × 3,0 mm)
Fase móvel	95% etanol 5% água
Temperatura	40°C
Volume de injeção	10,0 μL
Fluxo da fase móvel	0,4mL/min
Comprimento de onda	210 nm
Modo de eluição	Isocrático

O cromatograma referente às condições descritas na **Tabela 5** pode ser observado na **Figura 8**.

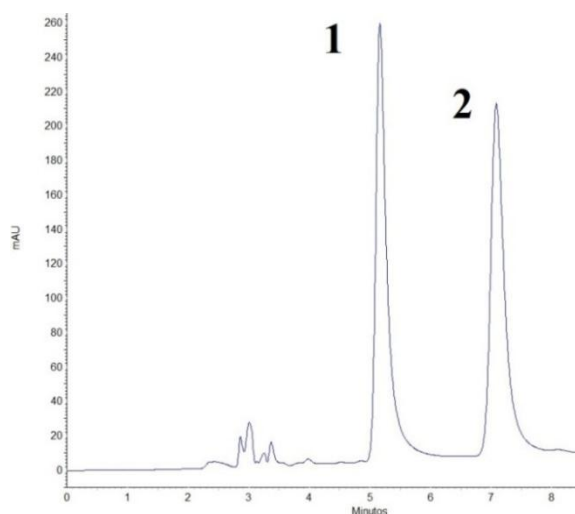


Figura 8. Cromatograma referente à análise dos enantiômeros do ABZSO com boa resolução.

Para assegurar que a condição obtida na **Figura 8** fosse a melhor condição a ser otimizada, foram estudadas diferentes variações nas condições cromatográficas, visando a observação do comportamento dos enantiômeros frente a essas mesmas variações. Foram testadas diferentes composições da fase móvel no modo reverso. Os cromatogramas apresentados na **Figura 9** são referentes a alguns exemplos de composição de fase móvel avaliadas.

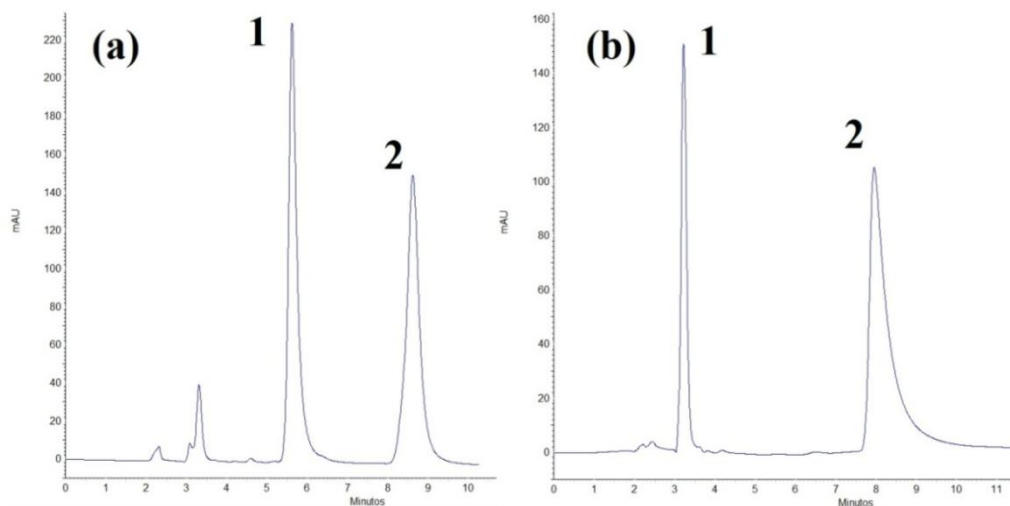


Figura 9. (a) Cromatograma referente à análise do ABZSO com coluna Chiralpak[®] IA-3 (100 × 4,6 mm, 3µm) protegida com coluna de guarda C12 Phenomenex[®] AJP-6074 (4 × 3,0 mm), temperatura de 40°C, vazão de 0,4 mL/min, fase móvel composta de metanol : água (95 : 5, v/v), comprimento de onda de 210 nm, volume de injeção de 10 µL e concentração de 40µg/mL. Sendo que 1 e 2 correspondem aos enantiômeros do ABZSO; (b) Condição similar à condição (a), contudo com composição da fase móvel de acetonitrila : água (95 : 5, v/v).

Analisando a **Figura 9**, infere-se que a fase móvel composta por metanol/água gerou um melhor comportamento dos picos do que a fase móvel composta por acetonitrila/água, uma vez que na **Figura 9(b)** o pico do enantiômero 2 apresentou uma calda posterior inadequada e o tempo de retenção foi mais elevado.

Também foram avaliados o efeito da variação da temperatura, vazão e proporção da fase móvel na corrida cromatográfica. Tais resultados podem ser observados na **Figura 10**, **Figura 11** e **Figura 12**, respectivamente.

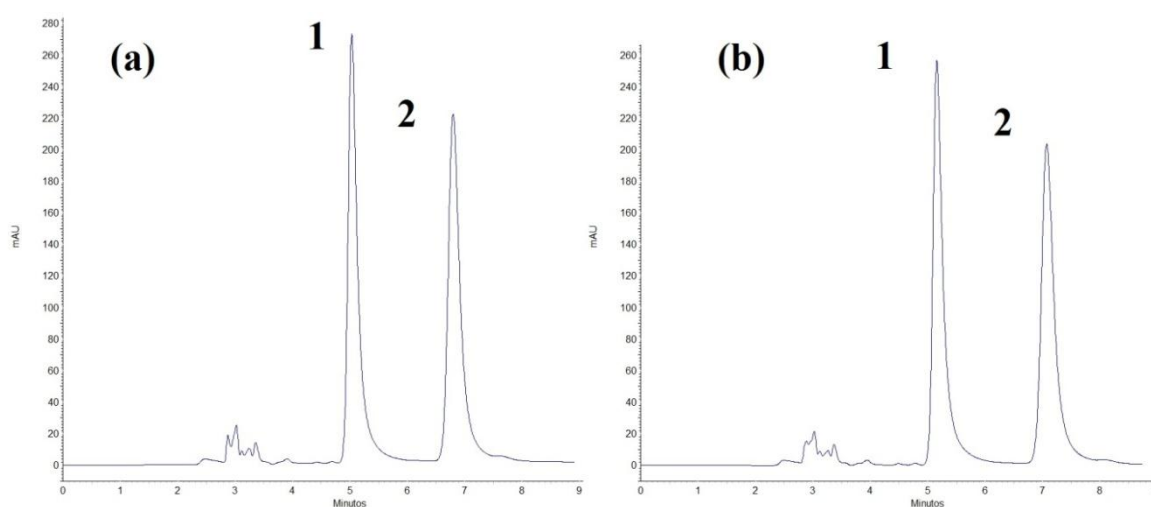


Figura 10.(a)Cromatograma referente à análise do ABZSO com coluna Chiralpak[®] IA-3 (100 × 4,6 mm, 3 μ m) protegida com coluna de guarda C12 Phenomenex[®] AJP-6074 (4 × 3,0 mm), temperatura de 37°C, vazão de 0,4 mL/min, fase móvel composta de etanol : água (95 : 5, v/v), comprimento de onda de 210 nm, volume de injeção de 10 μ L e concentração de 40 μ g/mL. Sendo que 1 e 2 correspondem aos enantiômeros do ABZSO; (b) Condição similar à condição (a), contudo com temperatura de 34°C.

Analisando a **Figura 10**, percebe-se que com o aumento da temperatura houve uma diminuição do tempo de retenção dos enantiômeros. Com relação à **Figura 11**, pode-se dizer que um aumento da vazão também acarretou diminuição do tempo de retenção, como era esperado.

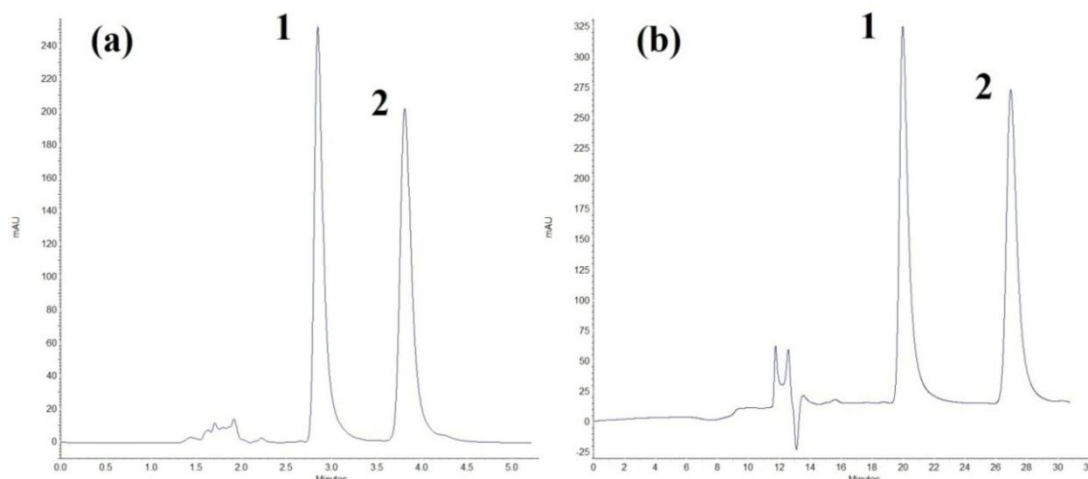


Figura 11.(a)Cromatograma referente à análise do ABZSO com coluna Chiralpak[®] IA-3 (100 × 4,6 mm, 3µm) protegida com coluna de guarda C12 Phenomenex[®] AJP-6074 (4 × 3,0 mm), temperatura de 40°C, vazão de 0,7 mL/min, fase móvel composta de etanol : água (95 : 5, v/v), comprimento de onda de 210 nm, volume de injeção de 10 µL e concentração de 40µg/mL. Sendo que 1 e 2 correspondem aos enantiômeros do ABZSO; (b) Condição similar à condição (a), contudo com vazão de 0,1 mL/min.

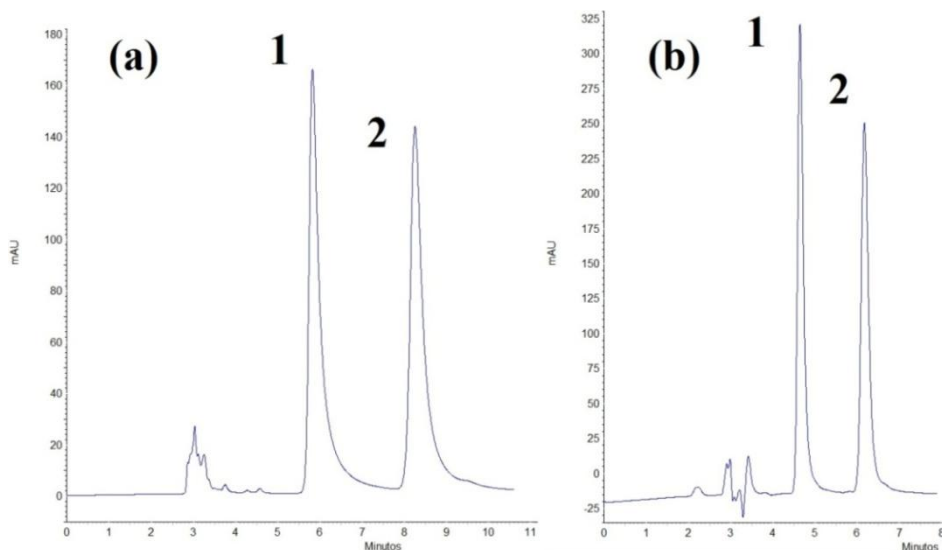


Figura 12.(a)Cromatograma referente à análise do ABZSO com coluna Chiralpak[®] IA-3 (100 × 4,6 mm, 3µm) protegida com coluna de guarda C12 Phenomenex[®] AJP-6074 (4 × 3,0 mm), temperatura de 40°C, vazão de 0,4 mL/min, fase móvel composta de 100% etanol, comprimento de onda de 210 nm, volume de injeção de 10 µL e concentração de 40µg/mL. Sendo que 1 e 2 correspondem aos enantiômeros do ABZSO; (b) Condição similar à condição (a), contudo com composição da fase móvel composta de etanol : água (85 : 15, v/v).

Na **Figura 12**, a fase móvel composta por água e etanol gerou picos com melhor formato e resolução do que a composta apenas por etanol. Tal fenômeno se deve ao fato de que em separações com seletos quirais, o aumento da polaridade da fase móvel (neste caso pela adição de água) facilita a formação dos complexos no momento da interação entre a fase estacionária e analito.

Após as variações propostas, visualmente, vê-se que a condição aceitável foi bem mais adequada e passível de ser escolhida como otimizada do que as demais corridas cromatográficas realizadas, uma vez que houve a devida separação dos enantiômeros com menores tempos de retenção e melhores formatos dos picos. Para auxiliar na comprovação da escolha da metodologia de análise ótima, foram avaliados também alguns parâmetros para as variações propostas (**Tabela 6**). Já os valores obtidos para a condição aceitável estão na **Tabela 7**.

Tabela 6. Número de pratos teóricos, resolução e assimetria para cada um dos picos dos cromatogramas das Figuras 9, 10, 11 e 12 respectivamente, obtidos a partir do software do equipamento.

Figura	Enantiômero	Pratos Teóricos $N = \frac{16T^2}{W^2}$	Resolução $R = \frac{T_1 + T_2}{1/2(W_1 + W_2)}$	Assimetria $A = \frac{BC}{CA}$
Figura 9(a)	1	3682	0.00000	1.57453
	2	3556	6.32475	1.11.38
Figura 9(b)	1	2930	0.00000	1.11021
	2	1703	9.38375	3.24075
Figura 10(a)	1	4768	0.00000	1.79238
	2	5431	5.34826	1.54829
Figura 10(b)	1	4534	0.00000	1.85840
	2	4964	5.40409	1.58423
Figura 11(a)	1	3982	0.00000	1.80312
	2	4370	4.70191	1.43899
Figura 11(b)	1	5476	0.00000	1.93275
	2	7024	5.96491	1.59082
Figura 12(a)	1	2889	0.00000	2.70913
	2	3762	5.01039	2.03241
Figura 12(b)	1	5432	0.00000	1.53902
	2	5911	5.32518	1.38934

R: resolução, T: tempo de retenção do pico (min); W: largura da banda cromatográfica (min); N: número de pratos teóricos; A: assimetria; B: tempo final do pico (min); C: tempo do meio do pico (min); A: tempo inicial do pico (min).

Tabela 7. Valores de número de pratos teóricos, resolução, assimetria, área, tempo de retenção, fator de retenção e fator de separação para os enantiômeros do ABZSO obtidos a partir da condição aceitável de análise obtidos a partir do software do equipamento.

Enantiômero	Pratos Teóricos	Resolução	Assimetria	Tempo de Retenção	Fator de retenção (k) $k = \frac{m}{n}$	Fator de separação (α) $\alpha = \frac{k_2}{k_1}$
1	4535	-	1.81	5.17	1.30	-
2	5091	5.45	1.55	7.09	2.15	1.63

k: fator de retenção; m: massa do analito retida na fase estacionária; n: massa do analito na fase móvel; α : fator de separação.

Analisando a **Tabela 7**, percebe-se que comparado aos resultados obtidos para todas as condições da **Tabela 6**, o número de pratos teóricos para os enantiômeros 1 e 2 da condição aceitável foram valores bem acima do mínimo esperado, que é de 2000 e relativamente melhores do que os demais obtidos. A resolução e assimetria também apresentaram valores excelentes, sendo que foram acima e abaixo de 2, respectivamente. As áreas foram adequadas e os tempos de retenção bem distintos, comprovando a separação dos picos e a escolha da condição aceitável como condição ótima de análise.

Para assegurar uma escolha adequada do comprimento de onda e a separação devida dos enantiômeros durante a análise, foram obtidos por fim o gráfico de contorno e do espectro 3D da condição otimizada, que podem ser observados na **Figura 13** e **Figura 14**, respectivamente. Pode-se inferir a partir da análise dessas figuras que os picos ficaram bem definidos e o comprimento de onda escolhido foi satisfatório para o objetivo pretendido.

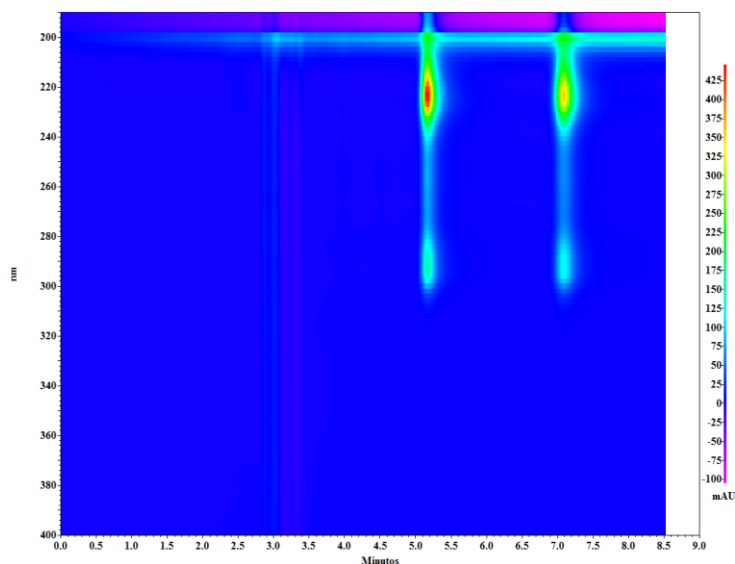


Figura 13.Gráfico de contorno para a condição otimizada para a análise dos enantiômeros do ABZSO.

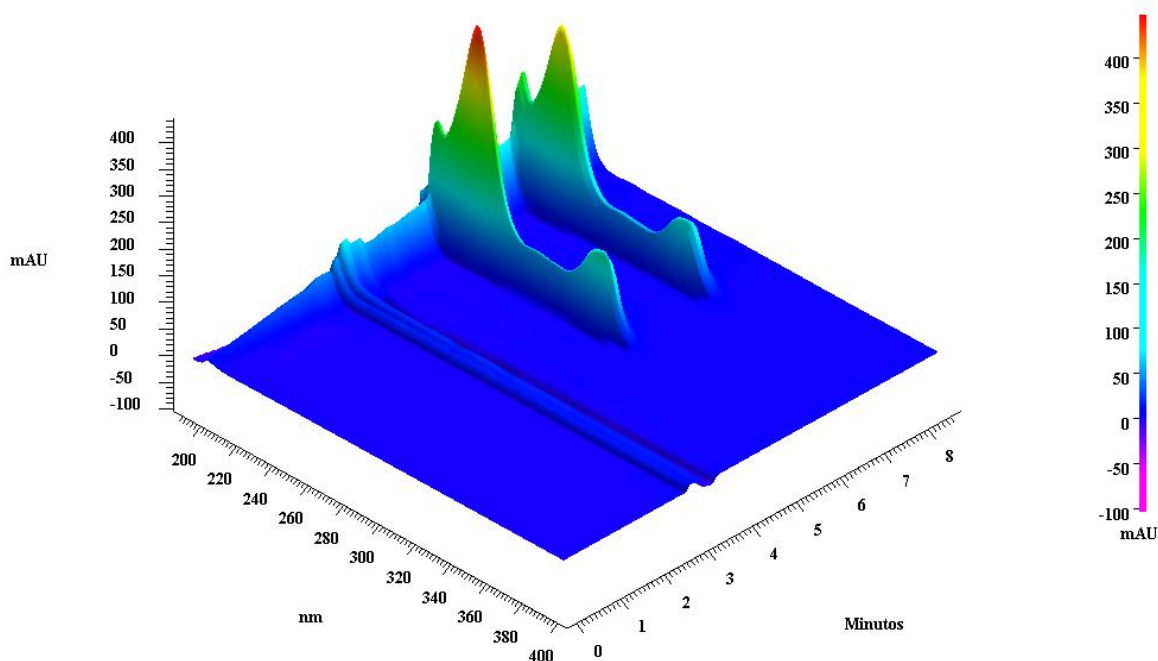


Figura 14.Espectro 3D na condição otimizada para a análise dos enantiômeros do ABZSO.

A otimização das condições de análise dos enantiômeros do ABZSO foi realizada com o padrão do fármaco diluído em metanol. Já o preparo de amostras emprega soluções de urina enriquecidas. Logo que foram realizados os primeiros testes do preparo de amostras, notou-se que na condição otimizada escolhida anteriormente, os interferentes presentes na urina influenciavam na determinação e quantificação dos enantiômeros, coeluyendo com os mesmos. Assim, houve a necessidade de uma nova otimização, visando à retirada dos

interferentes oriundos da matriz biológica (urina) nos tempos de retenção dos enantiômeros do ABZSO.

Na **Figura 15** pode ser observado o cromatograma da melhor condição obtida. A **Figura 15(a)**, que corresponde à corrida cromatográfica da amostra hidrolisada e extraída sem a adição de fármaco, há um pico com sinal considerável e outros menores, que são apenas interferentes oriundos da matriz. Já na **Figura 15(b)**, que corresponde à corrida cromatográfica da amostra hidrolisada, enriquecida e extraída, há inicialmente os interferentes oriundos da matriz e finalmente, representados por **1** e **2**, os enantiômeros do ABZSO. Analisando a figura como um todo, conclui-se que a nova condição otimizada possibilitou a separação dos interferentes da urina e os enantiômeros.

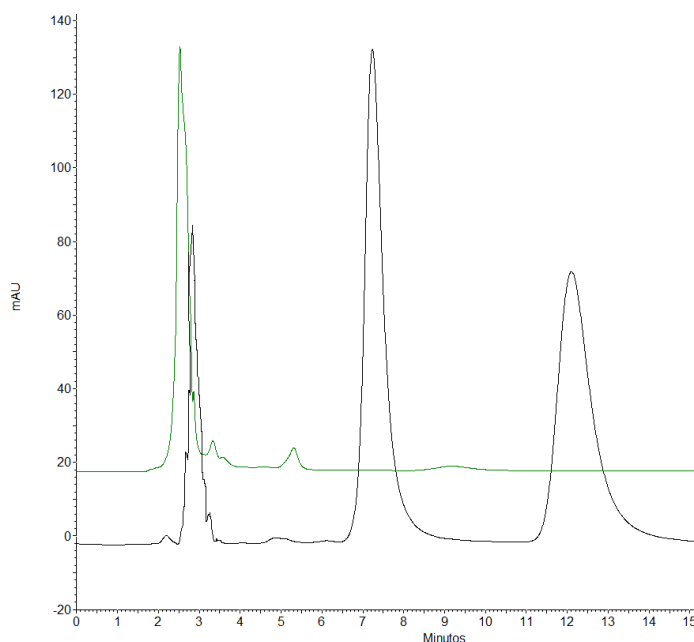


Figura 15. Cromatograma referente à análise do ABZSO com coluna Chiralpak[®] IA-3 (100 × 4,6 mm, 3 μm) protegida com coluna de guarda C12 Phenomenex[®] AJP-6074 (4 × 3,0 mm) acoplada a uma coluna Agilent[®] Eclipse Plus C₁₈ (100 × 4,6 mm, 3,5 μm), temperatura de 40°C, vazão de 0,9 mL/min, fase móvel composta de etanol : água (50 : 50, v/v), comprimento de onda de 230 nm, volume de injeção de 25 μL e concentração de 40 μg/mL. Sendo que 1 e 2 correspondem aos enantiômeros do ABZSO. (a) Análise da amostra extraída isenta do analito; (b) Análise da amostra extraída enriquecida com o analito.

4.2. Caracterização do material sintetizado

4.2.1. Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier

Os resultados dos espectros FTIR para o MIP (**Figura 16**) indicaram que o material apresentou picos significativos por volta de 3600 cm^{-1} , banda correspondente ao estiramento O-H, o qual aparece normalmente em $3600\text{-}3700\text{ cm}^{-1}$. Em torno de 2940 cm^{-1} identificam-se bandas características das vibrações de distensão das ligações C-H alifáticas e por volta de 1410 cm^{-1} revelam-se bandas relativas às deformações CH_2 . Em $1710\text{-}1754\text{ cm}^{-1}$ aparece uma banda atribuída ao alongamento O-C=O e em 1250 cm^{-1} é referente ao alongamento C-O-C típica de ésteres. Já na **Figura 17**, que representa o Espectro FTIR para o NIP sintetizado, pode-se observar que não houve diferenças significativas em detrimento ao Espectro da **Figura 16**.

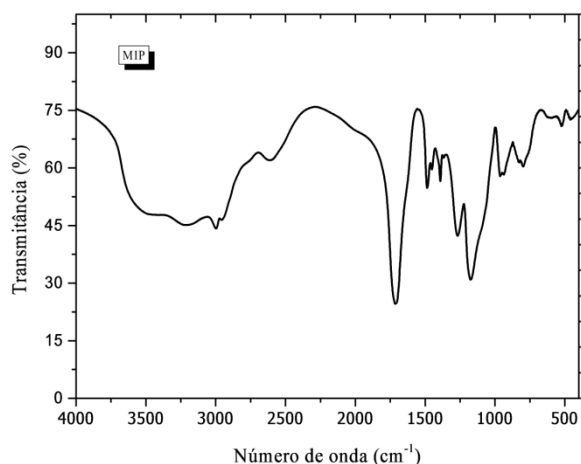


Figura 16. Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier para o MIP sintetizado.

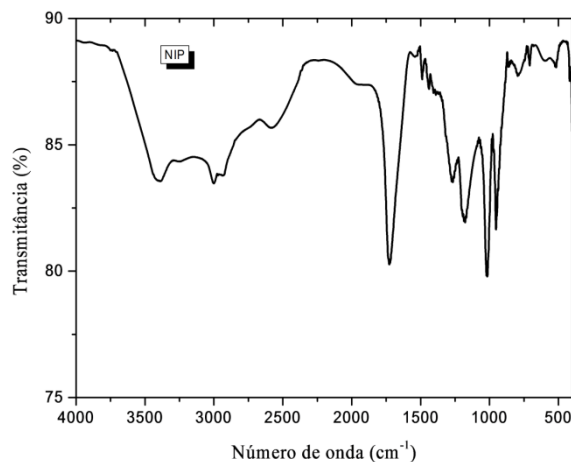


Figura 17. Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier para o NIP sintetizado.

4.2.2. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A **Figura 18** representa as imagens por MEV em diferentes aumentos do MIP. Estas imagens foram analisadas em relação à aparente porosidade do material sintetizado. Pode-se observar que o MIP sintetizado apresentou estruturas aparentemente porosas, o que implica em um possível bom desempenho no emprego em preparo de amostras.

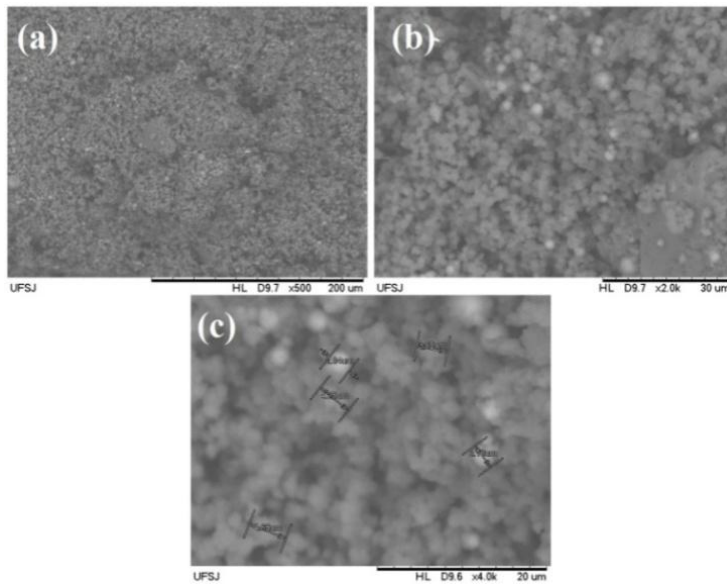


Figura 18. Representação das imagens por MEV do MIP sintetizado, nos aumentos de: (a) 500 ×, (b) 2000 × e (c) 4000 ×.

Já a **Figura 19** representa as imagens por MEV em diferentes aumentos do NIP. Pode-se observar que, da mesma forma que o MIP, o NIP sintetizado apresentou estruturas aparentemente extremamente porosas e que não houve diferença significativa em relação às imagens obtidas para ambos os materiais.

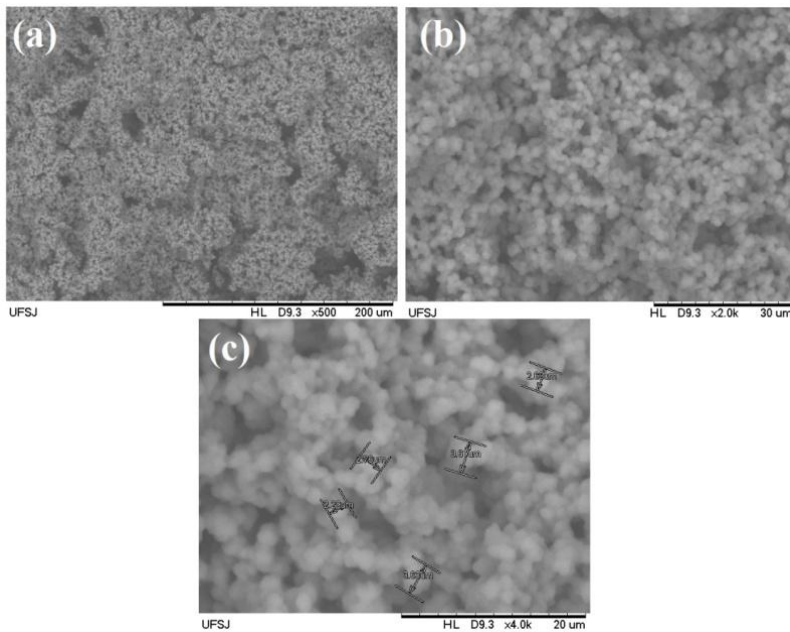


Figura 19. Representação das imagens por MEV do NIP sintetizado nos aumentos de: (a) 500 ×, (b) 2000 × e (c) 4000 ×.

4.2.3. Termogravimetria

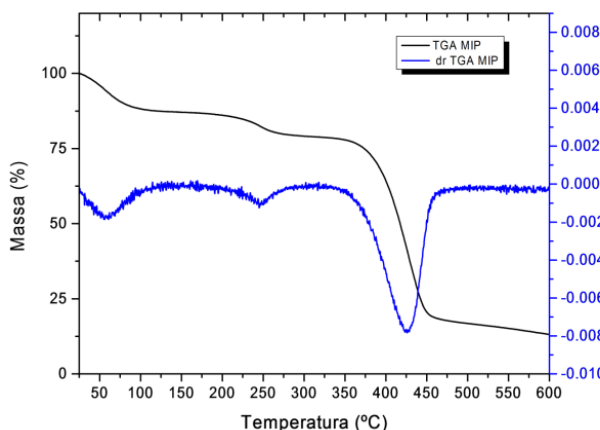


Figura 20. TGA e DrTGA do MIP.

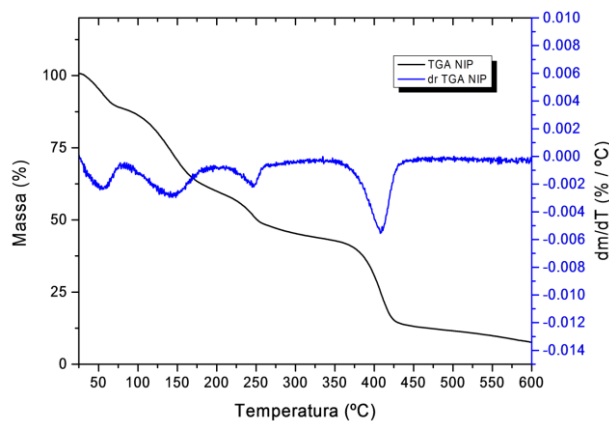


Figura 21. TGA e DrTGA do NIP.

As curvas termogravimétricas dos materiais estão mostradas nas **Figuras 20e 21**. É possível verificar a presença de três efeitos térmicos diferentes, sendo que o primeiro apresenta uma pequena perda de peso devido à evaporação da água (aproximadamente 100°C). O segundo indica o início do processo de decomposição do material mostrando uma rápida perda de peso (por volta de 400°C). O terceiro apresenta uma pequena perda de peso devido a uma possível formação e evaporação de alguns compostos voláteis (a partir de 450°C). Portanto, foi possível observar que em torno 400°C os materiais sintetizados começaram a se decompor.

4.3. Desenvolvimento e otimização do preparo de amostra

4.3.1. Efeito do solvente de lavagem

Inicialmente, as ponteiros com o material sintetizado foram condicionadas com 500 μL de água ultrapura, seguida da adição de 500 μL de amostra enriquecida de urina. Posteriormente, foram adicionados 300 μL do solvente de lavagem, seguido de análise por HPLC. Neste caso, foram avaliados água e hexano. Com base nos experimentos, não foi detectada a presença dos analitos em nenhum destes solventes. Assim, a água foi escolhida como melhor solvente, pelo fato resultar em um perfil cromatográfico com bastante interferentes, ou seja, apresentou melhor retirada de interferentes da matriz e por não ser tóxica e danosa ao meio ambiente, além do benefício econômico (**Figura 22**).

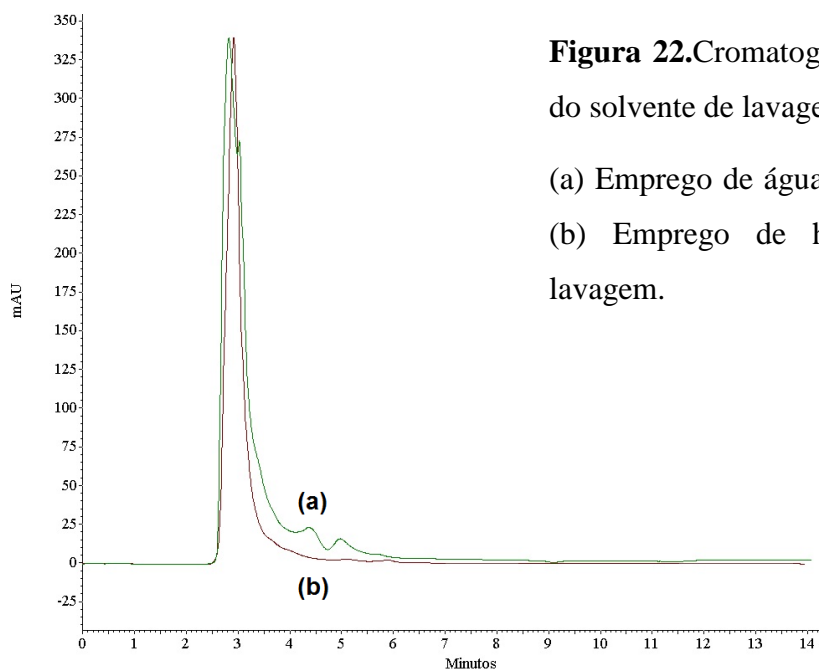


Figura 22. Cromatogramas referentes à avaliação do solvente de lavagem.

(a) Emprego de água como solvente de lavagem;
(b) Emprego de hexano como solvente de lavagem.

4.3.2. Efeito do solvente de eluição

Foram avaliados metanol, etanol e acetonitrila, todos com adição de 10% de ácido acético. Com base no gráfico da **Figura 23**, observam-se melhores recuperações para o etanol, seguido do metanol, e por fim, a acetonitrila. Assim, o etanol foi escolhido como melhor solvente de eluição e selecionado para os próximos experimentos.

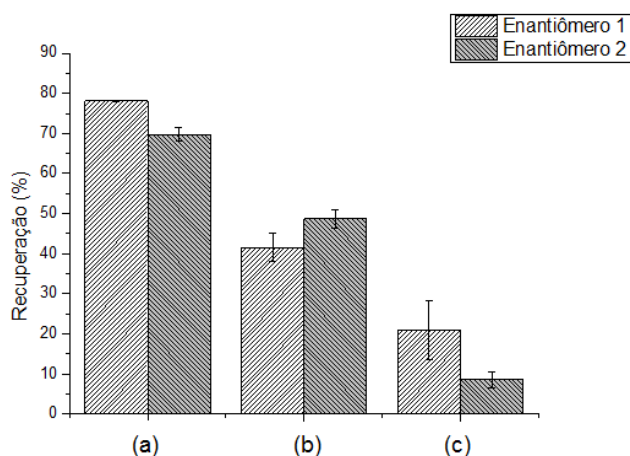


Figura 23. Estudo do efeito do solvente de eluição da recuperação dos analitos em urina humana.

(a) etanol : ácido acético (9 : 1, v/v),
(b) metanol : ácido acético (9 : 1, v/v),
(c) acetonitrila : ácido acético (9 : 1, v/v).

4.3.3. Efeito da quantidade de material

A adsorção ocorre pela deposição de uma substância sobre a superfície de um material adsorvente. Assim, foram estudadas diferentes quantidades de material adsorvente: 10, 20 e 30 mg (**Figura 24**). As quantidades de MIP de 10 e 20 mg resultaram em recuperações parecidas. Contudo, devido ao perfil cromatográfico e à facilidade de manuseio da ponteira, foi escolhida a quantidade de 20 mg.

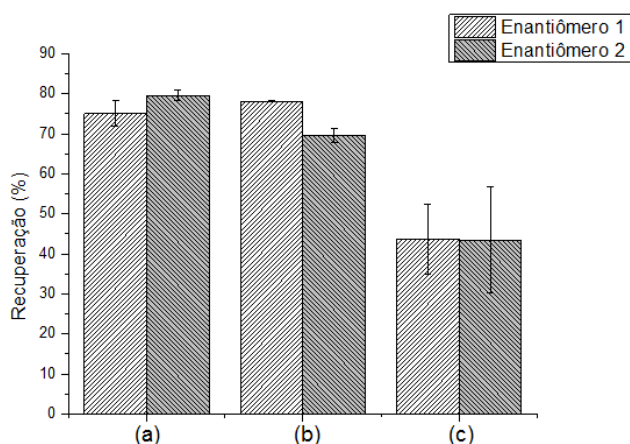


Figura 24. Estudo do efeito da quantidade de material na recuperação dos analitos em urina humana. (a) 10 mg; (b) 20 mg; (c) 30 mg.

4.3.4. Efeito do volume de amostra

Foram estudados os volumes de 250, 500 e 750 μL para se obter melhor recuperação dos analitos. Nota-se pela **Figura 25** que em 250 μL foi obtida uma menor recuperação. Já em 750 μL houve a saturação do material, resultando também em uma baixa recuperação. Assim, foram obtidos melhores resultados para o volume de 500 μL .

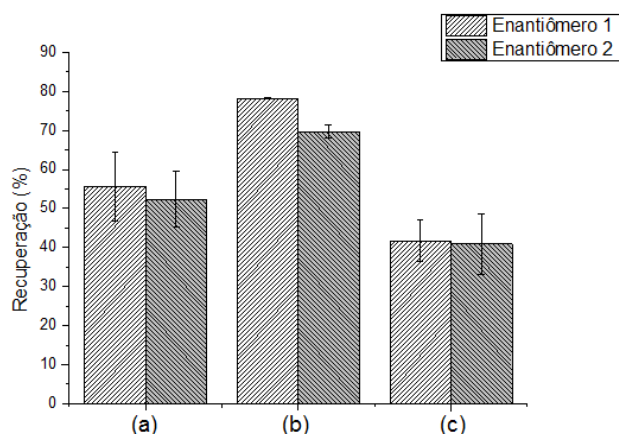


Figura 25. Estudo do efeito do volume de amostra na recuperação dos analitos em urina humana. (a) 250 μL ; (b) 500 μL ; (c) 750 μL .

4.3.5. Efeito do volume de eluente

Nesta etapa foram avaliados 200, 300, 400 e 500 μL (**Figura 26**). Nota-se que 300 μL apresentou um máximo de recuperação dos enantiômeros, tendo sido este volume escolhido para os próximos experimentos.

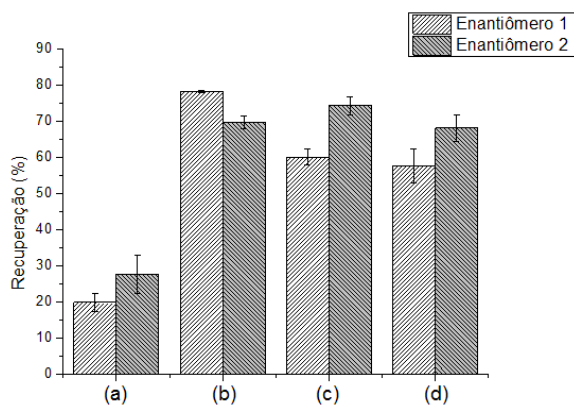


Figura 26. Estudo do efeito do volume do eluente na recuperação dos analitos em urina humana. (a) 200 μL ; (b) 300 μL ; (c) 400 μL ; (d) 500 μL .

4.3.6. Efeito do pH

O ABZSO possui pKa de 10,05, assim em pHs pouco acima e pouco abaixo de seu pKa espera-se encontrá-lo na forma molecular, o que é melhor para ser extraído de amostras de urina. Foram avaliados os pHs de 3, 7,5, 9 e 12. Pode-se observar pela **Figura 27** que em pH 3 e 7,5 as recuperações foram inferiores ao pH 9. Já em pH 12 houve uma diminuição da recuperação em relação ao pH anterior. Assim, o pH 9 foi escolhido para a realização do procedimento de extração dos fármacos.

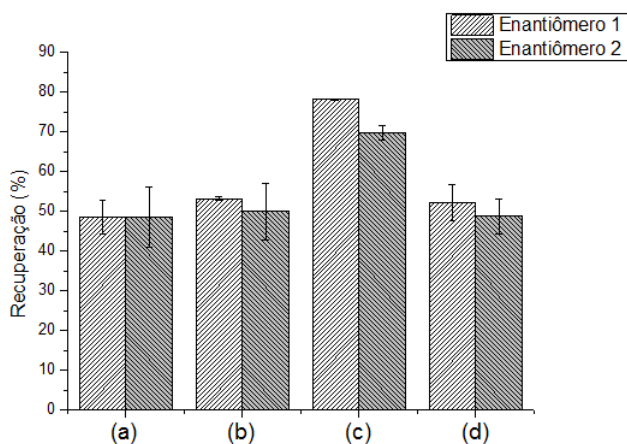


Figura 27. Estudo do efeito do pH na recuperação dos analitos em urina humana. (a) pH 3,0; (b) pH 7,5; (c) pH 9,0; (d) pH 12,0.

4.3.7. Efeito da adição de NaCl

A força iônica mede a concentração de íons dissolvidos em solução, além de alterar as propriedades físicas da amostra. A adição de sal reduz a solubilidade dos interferentes presentes em uma amostra, o que é benéfico para a extração dos analitos de interesse. Mas, a adição de NaCl pode reduzir a transferência de massa conduzindo assim a uma diminuição da taxa de difusão do ABZSO à superfície do MIP. Foram estudadas as adições de 5, 10 e 20 % de sal (**Figura 28**).

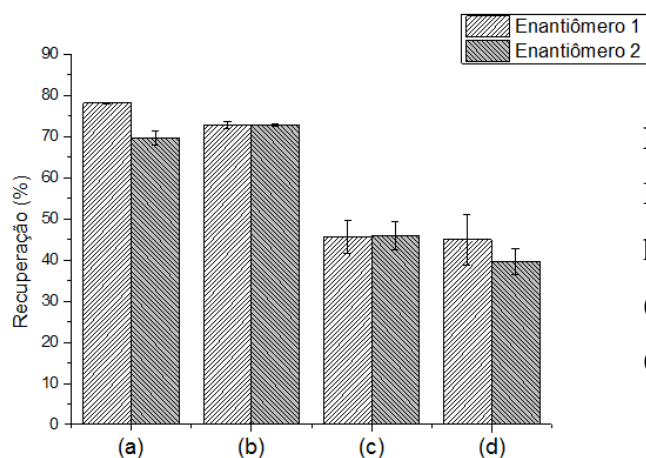


Figura 28. Estudo do efeito da adição de NaCl na recuperação dos analitos em urina humana.

(a) Sem adição de sal; (b) 5%; (c) 10%; (d) 20%.

Nota-se uma diminuição gradativa das recuperações à medida que se aumentou a porcentagem de sal adicionada. Portanto, o NaCl não foi adicionado à amostra.

4.3.8. Avaliação de outros materiais

Finalmente, para fins comparativos foram avaliados outros materiais adsorventes: NIP e C₁₈. Com base na **Figura 29**, observa-se que o C₁₈ não foi eficiente na extração dos fármacos e o NIP, como não possui cavidades seletivas, extraiu os enantiômeros, mas em quantidades menores se comparado ao MIP.

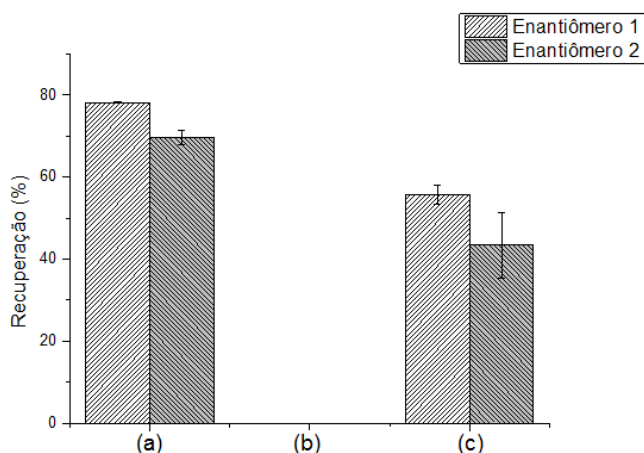


Figura 29. Estudo da recuperação dos analitos em urina empregando outros materiais. (a) MIP; (b) C₁₈; (c) NIP.

4.4. Estudos de adsorção

4.4.1. Avaliação do pH para melhor adsorção

Após a variação do pH das soluções aquosas enriquecidas com ABZSO, construiu-se gráficos pH × recuperação para MIP e NIP, que podem ser observados na **Figura 30**. Analisando os gráficos, pode-se inferir que o melhor pH de adsorção tanto para o MIP quanto para o NIP foi o pH 9,0, o que condiz com os resultados obtidos na otimização do preparo de amostras em urina enriquecida realizado anteriormente. Há visivelmente um aumento da adsorção com a elevação do pH, um ponto máximo e um declínio em pH 12,0. Tal fenômeno se deve ao fato de que, como explicado anteriormente, o ABZSO possui um pKa de 7,8. Assim, em pHs próximos ao valor do seu pKa, o fármaco encontra-se na forma molecular e mais passível de ser adsorvido e extraído.

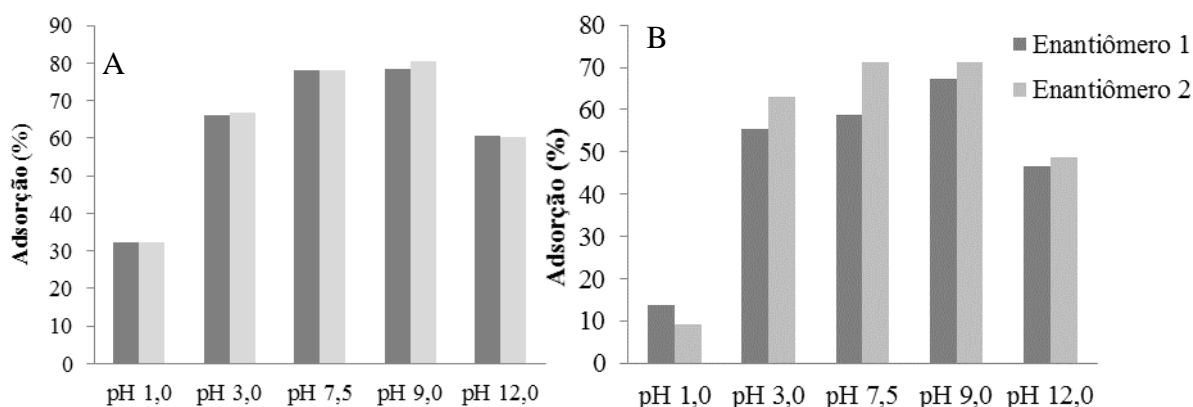


Figura 30. Avaliação do pH de adsorção para o (A) MIP e (B) NIP sintetizado.

4.4.2. Cinética de Adsorção

O estudo da cinética de adsorção é de grande importância, sendo que possibilita a compreensão do processo de adsorção. O estudo da cinética em processos de adsorção é de grande importância, sendo que possibilita a compreensão do processo de adsorção. Na **Figura 31** podem ser observados os gráficos obtidos da cinética de adsorção para o Enantiômero 1 e 2 do ABZSO para o MIP e NIP sintetizados. Analisando os gráficos, infere-se que os enantiômeros (MIP e NIP) possuem um comportamento semelhante. Com relação à cinética (**Figura 31(a)**), inicialmente há um aumento na adsorção em ambos os casos, comprovando a baixa resistência à transferência de massa. Posteriormente há uma estabilização dos sistemas, inferindo que os materiais atingiram um máximo de adsorção no equilíbrio, em aproximadamente em 15 min. para o MIP e 20 min. para o NIP.

As isotermas de pseudo-segunda ordem (**Figura 31(d)** e **Figura 31(e)**), tanto para o Enantiômero 1 quanto para o Enantiômero 2 geraram uma melhor linearidade do que as de primeira ordem (**Figura 31(b)** e **Figura 31(c)**). Este modelo de segunda ordem descreve bem processos de adsorção química, envolvendo doação ou troca de elétrons entre o adsorvato e o adsorvente, como forças covalentes e de troca iônica. O modelo de pseudo-segunda ordem também supõe que duas reações estejam ocorrendo, em série ou em paralelo, sendo uma mais rápida, fazendo com que o equilíbrio seja alcançado rapidamente, e outra mais lenta, que pode continuar por um longo período de tempo (HO, 2004).

Em Elovich (**Figura 31(f)** e **Figura 31(g)**) pode-se observar a existência de duas retas, o que infere que este não é o mecanismo dominante no processo de adsorção. A equação de Elovich foi proposta em 1934, por Roginsky e Zeldovich e tem sido bastante aplicada a processos de bioadsorção, assim como processos de adsorção química de gases em materiais sólidos. Também tem sido utilizada nos últimos anos para descrever a adsorção de poluentes de soluções aquosas (HO, 2004). A equação de Elovich considera que a etapa limitante do processo é a difusão das moléculas e revela comportamentos de quimissorção (HO, 2004).

Como o modelo de pseudo-segunda ordem não é capaz de identificar o mecanismo de difusão, o modelo de difusão intra-partícula também foi utilizado. Quando a difusão intra-partícula é o mecanismo dominante no processo de adsorção, o gráfico de quantidade adsorvida q_e versus $t^{1/2}$ deve resultar em uma reta. Para a **Figura 31(h)** e **Figura 31(i)**, observa-se que o gráfico não é linear durante todo o processo, sugerindo que o mecanismo de difusão intra-partícula não é dominante durante todo o processo. Desta forma, os dados são

mais bem representados por duas fases lineares, sendo que a fase inicial representa o efeito de camada limite, com transferência de massa externa, em que o ABZSO é rapidamente adsorvido pelo MIP (HO, 2004).

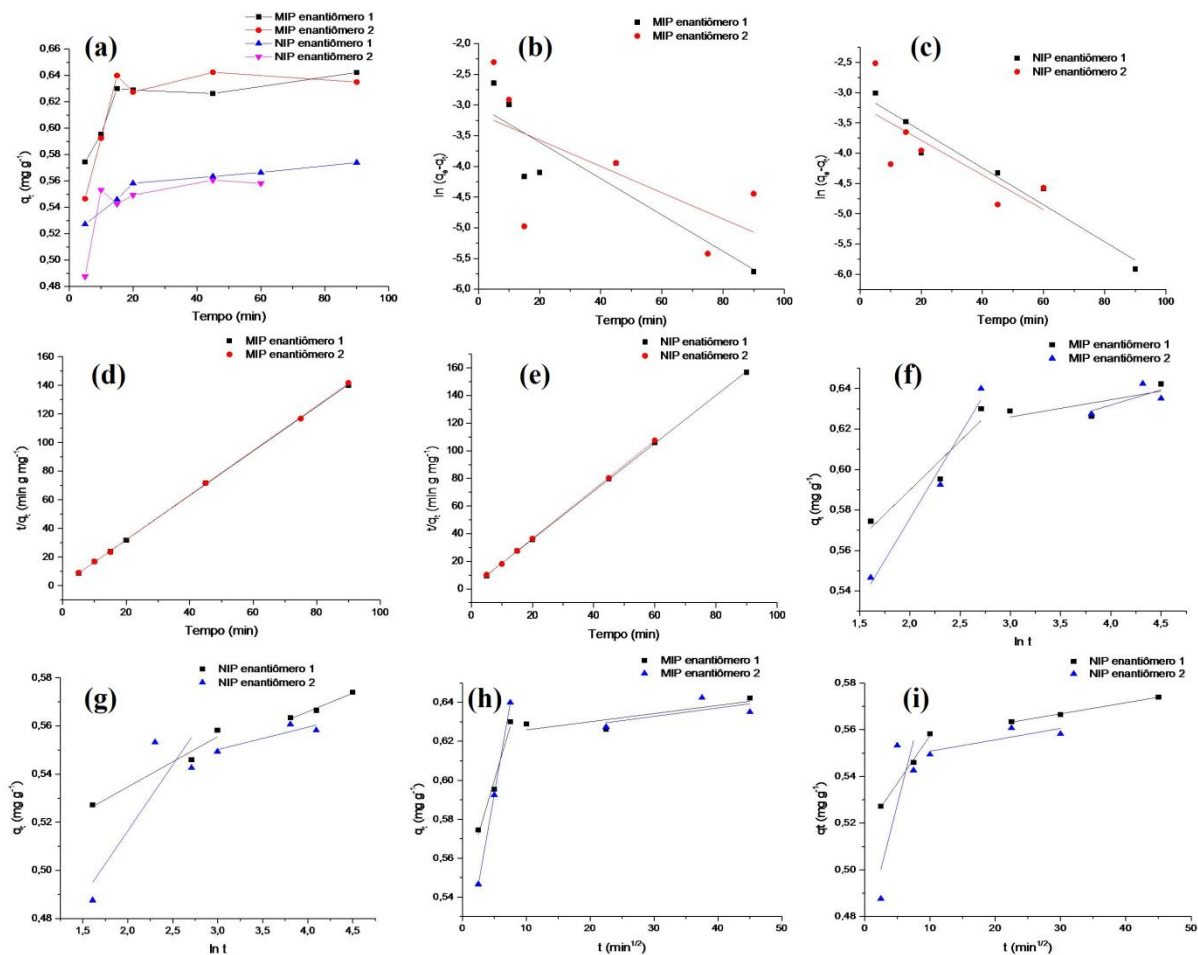


Figura 31. Gráficos relativos ao estudo da cinética de adsorção do enantiômero 1 e 2 do ABZSO para o MIP e NIP sintetizados. (a) Cinética de adsorção MIP e NIP; (b) pseudo-primeira ordem MIP; (c) pseudo-primeira ordem NIP; (d) pseudo-segunda ordem MIP; (e) pseudo-segunda ordem NIP; (f) Elovich MIP; (g) Elovich NIP; (h) Difusão intra-partícula MIP; (i) Difusão intra-partícula NIP.

Na **Tabela 8** podem ser observados os dados relativos à cinética de adsorção dos enantiômeros do ABZSO para o MIP e NIP sintetizados.

Tabela 8. Dados relativos à cinética de adsorção dos enantiômeros do ABZSO para o MIP e NIP sintetizados.

Material	Enantiômero	Pseudo-primeira ordem $\ln(q_e - q_t) = \ln(q_e) - k_1 \cdot t$				Pseudo-segunda ordem $\frac{1}{q_t} = \frac{1}{(k_2 \cdot q_e)} + \frac{t}{q_e}$			
		K_1 (min^{-1})	q_e (mg g^{-1})	q_{exp} (mg g^{-1})	R^2	K_2 (min^{-1})	q_e (mg g^{-1})	q_{exp} (mg g^{-1})	R^2
MIP	1	0,029	0,050	0,626	0,781	2,242	0,650	0,626	0,999
	2	0,032	0,050	0,627	0,517	1,990	0,647	0,627	0,999
NIP	1	0,026	0,040	0,563	0,880	2,320	0,558	0,563	0,999
	2	0,043	0,050	0,549	0,635	2,800	0,568	0,561	0,999

Material	Enantiômero	Elovich $q_t = \frac{1}{\beta} \ln(\alpha \cdot \beta) + \frac{1}{\beta} \cdot \ln t$			Difusão intra-partícula $q_t = k_d \cdot t^{1/2} + C$		
		β ($\text{min}^{-1} \text{mg g}^{-1}$)	α (g mg^{-1})	R^2	K_d ($\text{mg g}^{-1} \text{min}^{1/2}$)	C (mg g^{-1})	R^2
MIP	1	0,493	0,048	0,916	0,011	0,544	0,979
		0,600	0,009	0,561	0,000	0,621	0,757
	2	0,410	0,082	0,974	0,018	0,499	0,999
		0,571	0,015	0,517	0,000	0,619	0,441
NIP	1	0,492	0,020	0,957	0,004	0,516	0,994
		0,504	0,015	0,979	0,000	0,552	0,997
	2	0,406	0,054	0,748	0,011	0,472	0,609
		0,522	0,009	0,797	0,000	0,545	0,688

K_1 : constante de pseudo-primeira ordem para o processo de adsorção; K_2 : constante de pseudo-segunda ordem; β : está relacionada com a extensão da cobertura da superfície e energia de ativação para quimissorção; α : constante de sorção inicial; K_d : coeficiente de difusão interna; C : constante relacionada com a espessura da camada limite.

Complementar aos gráficos da **Figura 31**, ao analisar os dados da **Tabela 8**, comprova-se que o modelo de pseudo-segunda ordem apresentou melhor ajuste tanto para o NIP quanto para o MIP sintetizados, com valores de R^2 de 0,999 e valores de q_{exp} bem próximos do q_e calculado.

4.4.3. Isotermas de adsorção

Os dados experimentais de isoterma de adsorção foram ajustados aos modelos de várias isotermas. Os gráficos provenientes da junção de cada isoterma para os enantiômeros 1 e 2 do ABZSO tanto para o NIP quanto para o MIP podem ser observados na **Figura 32**.

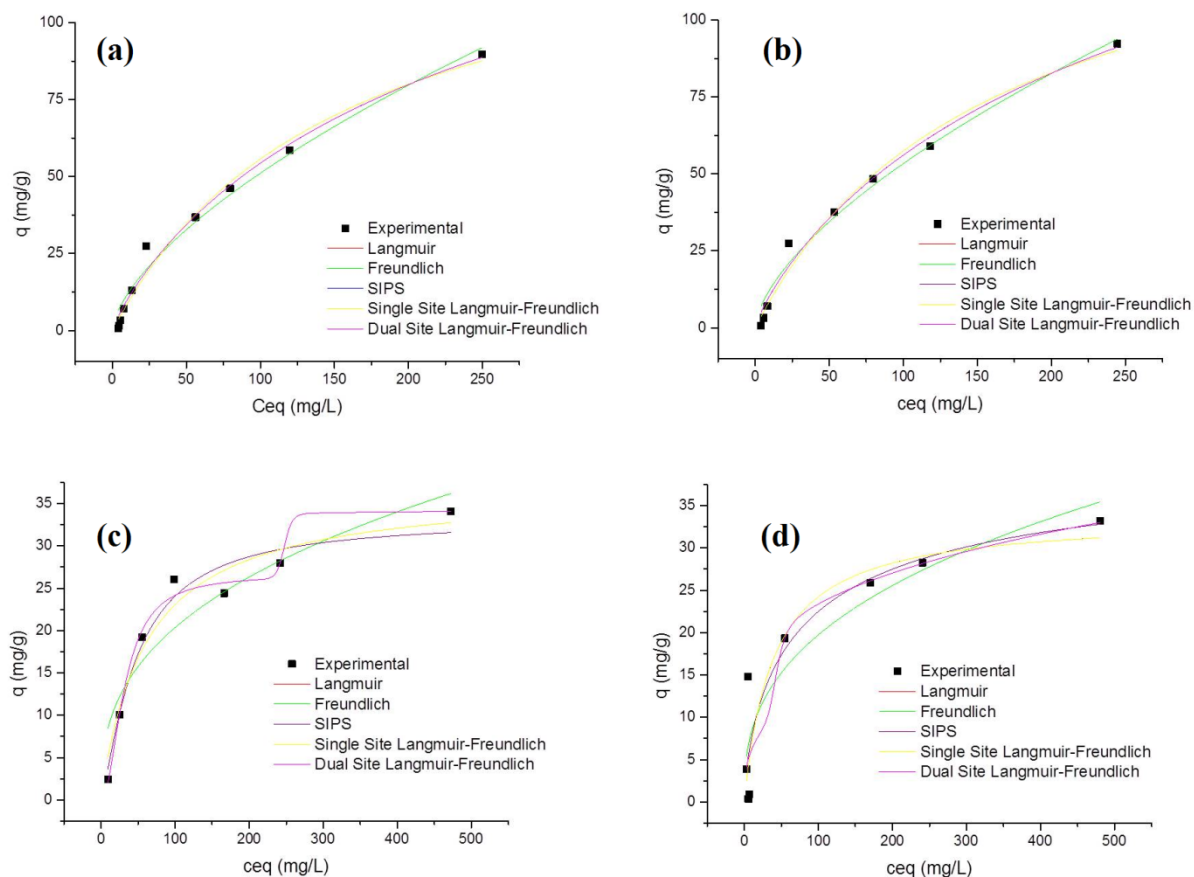


Figura 32. Representação da junção de todas as isotermas de adsorção construídas para os enantiômeros do ABZSO tanto para o NIP quanto para o MIP sintetizados. (a) Enantiômero 1 do ABZSO para o MIP; (b) Enantiômero 2 do ABZSO para o MIP; (c) Enantiômero 1 do ABZSO para o NIP; (d) Enantiômero 2 do ABZSO para o NIP.

Já os valores dos parâmetros relevantes para as isotermas de cada enantiômero do ABZSO tanto para o MIP quanto para o NIP podem ser observados na **Tabela 9**. Analisando os dados da tabela e os gráficos da **Figura 32**, infere-se que os enantiômeros do ABZSO apresentaram um melhor comportamento quando em contato com o MIP sintetizado (**Figura 32(a)** e **Figura 32(b)**), uma vez que as isotermas construídas para o MIP apresentaram melhores valores de R^2 . Assim fica mais uma vez comprovada uma melhor capacidade de adsorção do MIP para o ABZSO frente ao NIP sintetizado.

Tabela 9. Dados relativos às isotermas de adsorção dos enantiômeros do ABZSO para o MIP e NIP sintetizados.

Modelo	Equação	Par.	Enant. 1 MIP	Enant. 2 MIP	Enant. 1 NIP	Enant 2 NIP
Langmuir	$q_e = \frac{Q \cdot K_L \cdot C_{eq}}{(1 + K_L \cdot C_{eq})}$	K_L	0,0064	0,0063	0,0166	0,0255
		Q	141,9190	148,4400	36,9000	33,7400
		R^2	0,9800	0,9800	0,9500	0,8400
Freundlich	$q_e = K_F \cdot C_{eq}^{\frac{1}{n}}$	K_F	2,6700	2,9200	2,6920	3,5410
		n	1,5600	1,5800	2,6980	2,6810
		R^2	0,9800	0,9800	0,8600	0,8300
Sips	$q_e = \frac{Q \cdot K_S \cdot C_{eq}^n}{1 + K_S \cdot C_{eq}^n}$	K_S	0,0077	0,0078	0,0070	0,0432
		Q	187,4400	206,0600	33,1970	42,2730
		n	0,8620	0,8410	1,2870	0,7100
		R^2	0,9800	0,9800	0,9500	0,8200
Single Site Langmuir- Freundlich	$q_e = \frac{K_1 \cdot Q_1 \cdot C_{eq}}{(1 + K_1 \cdot C_{eq})^n}$	K_1	0,2100	0,2100	1,1920	0,3020
		Q_1	4,3150	4,4840	3,1950	2,8460
		n	0,0303	0,0302	0,0866	0,0840
		R^2	0,9800	0,9800	0,9400	0,8100
Dual Site Langmuir- Freundlich	$q_e = \frac{(Q_1 \cdot (K_1 \cdot C_{eq})^{n_1})}{1 + (K_1 \cdot C_{eq})^{n_1}} + \frac{(Q_2 \cdot (K_2 \cdot C_{eq})^{n_2})}{1 + (K_2 \cdot C_{eq})^{n_2}}$	K_1	0,0035	0,0031	0,0313	5,2420
		Q_1	93,7700	103,1300	26,5650	93,2300
		n_1	0,8615	0,8410	2,0170	0,3460
		K_2	0,0036	0,0031	0,0040	0,0231
		Q_2	103,1300	103,1300	7,6058	9,7420
		n_2	0,8614	0,8412	47,3240	7,1480
R^2	0,9700	0,9500	0,9500	0,5800		

K_L : Constante Langmuir ($L \cdot g^{-1}$), K_F : Constante Freundlich ($mg \cdot g^{-1}$) ($L \cdot g^{-1}$) — parâmetros de afinidade do adsorvente-adsorvato; $Q_{1,2}$: constante para a capacidade máxima de adsorção ($mg \cdot g^{-1}$); $n_{1,2}$: constante relacionada com a intensidade ou grau de adsorção.

5. CONCLUSÃO

MIP e NIP foram sintetizados e caracterizados para a análise de ABZSO em urina humana empregando PT-MIPs- μ -SPE e HPLC/DAD, além da realização de estudos de adsorção em solução aquosa enriquecida. Na síntese, obtiveram-se polímeros de aparência uniforme, com bandas características das substâncias utilizadas nas sínteses (FTIR), altas temperaturas de decomposição (TGA), acima de 400 °C, e aparente porosidade (MEV). A otimização da análise cromatográfica dos enantiômeros mostrou-se eficiente e reprodutível, com obtenção de formato, separação e resolução adequada dos picos tanto em metanol quanto em amostra enriquecida de urina e solução aquosa, a partir do emprego de uma coluna C₁₈ acoplada à coluna Chiralpak[®] IA-3 protegida com coluna de guarda C₁₂Phenomenex[®]. A otimização do preparo de amostras em urina forneceu recuperações aceitáveis e suficientes, por volta 80 % tanto para o MIP quanto para o NIP, sem o emprego de NaCl e com quantidades reduzidas de solvente orgânico. Não obstante, foi possível também a verificação da melhor capacidade de adsorção do MIP se comparado ao NIP e C₁₈. Na otimização do pH do meio para o estudo de adsorção, obteve-se resultado semelhante ao do preparo de amostras em urina e o tempo de contato necessário entre meio aquoso e material adsorvente para adsorção máxima, foi menor para o MIP do que para o NIP. Os estudos de adsorção comprovaram a eficiente capacidade de adsorção dos materiais, com modelo cinético de pseudo-segunda ordem de melhor ajuste em ambos os casos e as isotermas do MIP mais adequadas do que as do NIP, comprovando mais uma vez uma melhor capacidade de adsorção do MIP sobre NIP.

6. PERSPECTIVAS FUTURAS

Como perspectivas futuras, pretende-se realizar a validação e aplicação da metodologia de análise enantiosseletiva de ABZSO em urina humana por HPLC/MS, bem como a publicação de três estudos distintos envolvendo o trabalho realizado: sendo um primeiro abordando o preparo de amostras em urina humana, análise enantiosseletiva por HPLC/MS, validação e aplicação da metodologia, um segundo compreendendo uma ampla revisão acerca dos estudos disponíveis envolvendo a aplicação da μ -SPE agrupados por materiais adsorventes empregados e um último trabalho, destacando os estudos de isotermas e de cinéticas de adsorção em amostras aquosas enriquecidas.

7. REFERÊNCIAS

ALWAEEL, H.; CONNOLLY, D.; CLARKE, P.; THOMPSON, R.; TWAMLEY, B.; O'CONNOR, B.; PAULL, B. Pipette-tip selective extraction of glycoproteins with lectin modified gold nano-particles on a polymer monolithic phase. *Analyst*, Amsterdam, v. 136, n. 12, p. 2619-2628, 2011.

ANDRADE, R. T.; SILVA, R. C. S.; PEREIRA, A. C.; BORGES, K. B. Self-assembly pipette tip-based cigarette filters for micro-solid phase extraction of ketoconazole cis-enantiomers in urine samples followed by high performance liquid chromatography/diode array detection. *Analytical Methods*, Amsterdam, v. 17, n. 7, p. 7270-7279, 2015.

AZIZIAN, S. Kinetic models of sorption: a theoretical analysis, *Journal of Colloid and Interface Science*, London, v. 276, n. 1, p. 47-52, 2004.

BASHEER, C.; NARASIMHAN, K.; YIN, M.; ZHAO, C.; CHOOLANI, M.; LEE, H. K. Application of micro-solid-phase extraction for the determination of persistent organic pollutants in tissue samples. *Journal of Chromatography A*, Amsterdam, v. 1186, p. 358–364, 2008.

BAYO, J. D. F.; NOGALES, R.; ROMERO, E. Evaluation of the sorption process for imidacloprid and diuron in eight agricultural soils from Southern Europe using various kinetic models, *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, London, v. 56, n. 13, p. 5266-5272, 2008.

BELAZ, K. R. A.; DENADAI, M.; ALMEIDA, A. P.; LIMA, R. T.; VASCONCELOS, M. H.; MADALENA, M. P.; CASS, Q. B.; OLIVEIRA, R. V. Enantiomeric resolution of albendazole sulfoxide by semipreparative HPLC and in vitro study of growth inhibitory effects on human cancer cell lines. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, Amsterdam, v. 66, p. 100-108, 2012.

BONATO, P. S.; LANCHOTE, V. L.; TAKAYANAGUI, O. M. Simultaneous liquid chromatography–tandem mass spectrometric determination of albendazole sulfoxide and albendazole sulfone in plasma. *Journal of Chromatography B*, Amsterdam, v. 783, n. 1, p. 237–245, 2003.

BONATO, P. S.; OLIVEIRA, A. R.; SANTANA, F. J.; DUMET, J. F. B.; LANCHOTE, V. L.; GONZALEZ, A. E.; GARCIA, H. H.; TAKAYANAGUI, O. M. Simultaneous determination of albendazole metabolites, praziquantel and its metabolite in plasma by highperformance liquid chromatography–electrospray mass spectrometry. *Journal of Pharmaceutical Biomedical Analysis*, Amsterdam, v. 44, n. 2, p. 558–563, 2007.

CALVANO, C. D.; ARESTA, A.; IACOVONE, M.; BENEDETTO, G. E.; ZANBONIN, C. G.; BETTAGLIA, M.; DITONNO, P.; RUTIGLIANO, M.; BETTOCHI, C. Optimization of analytical and pre-analytical conditions for MALDI-TOF-MS human urine protein profiles. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, Amsterdam, v. 51, p. 907-914, 2010.

CAMPBELL, W. C. Benzimidazole: veterinary uses. *Parasitology Today*, Oxon, v. 6, n. 4, p. 130-133, 1990.

CAPECE, B. P. S. Caracterización Farmacológica del Albendazol sulfóxido y de sus enantiómeros en oveias y Ratas. Análisis del Metabolismo Ruminal. 156 f. Tese de Doutorado – Departamento de Farmacologia, de Terapêutica e de toxicologia, Universidade Autônoma de Barcelona, Barcelona, 2001.

CARO, E.; MARCÉ, R. M.; BORRULL, F.; CORMACK, P. A. G.; SHERRINGTON, D. C. Application of molecularly imprinted polymers to solid-phase extraction of compounds from environmental and biological samples. *Trends in Analytical Chemistry*, Oxon, v. 25, n. 2, p. 143-154, 2006.

CASTRO, N.; MÁRQUEZ-CARAVEO, C.; BRUNDAGE, R. C.; GONZÁLEZ-ESQUIVEL, D.; SUÁREZ, A. M.; GÓRGORA, F.; JARA, A.; URIZAR, J.; LANA O, J. M.; JUNG, H. Population pharmacokinetics of albendazole in patients with neurocysticercosis. *International Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics*, Deisenhofen-Muenchen, v. 47, n. 11, p. 679-685, 2009.

CHEN, X.; ZHAO, L.; XU, H.; ZHONG, D. Simultaneous determination of albendazole and its major active metabolite in human plasma using a sensitive and specific liquid chromatographic–tandem mass spectrometric method. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, Amsterdam, v. 35, n. 4, p. 829-836, 2004.

CLARK, H. L. M. Remoção de Fenilalanina por adsorvente produzido a partir de torta prensada de grãos defeituosos de café. 115 f. Dissertação de Mestrado – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2010.

CRISTÓFOL, C.; VIRKEL, G.; ALVAREZ, L.; SANCHEZ, S.; ARBOIX, M.; LANUSSE, C. Albendazole sulphoxide enantiomeric ratios in plasma and target tissues after intravenous administration of ricobendazole to cattle. *Journal of veterinary Pharmacology and Therapeutics*, Amsterdam, v. 24, n. 2, p. 117–124, 2001.

DELATOUR, P.; BENOIT, E.; BESSE, S.; BOUKRAA, A. Comparative enantioselectivity in the sulphoxidation of albendazole in man, dogs and rats. *Xenobiotica*, London, v. 21, n. 2, p. 217–221, 1991.

DELATOUR, P.; BENOIT, E.; CAUDE, M.; TAMBUTE, A., Species differences in the generation of the chiral sulfoxide metabolite of albendazole in sheep and rats. *Chirality*, Amsterdam, v. 2, n. 3, p. 156–160, 1990.

DELATOUR, P.; GARNIER, F.; BENOIT, E.; CAUDE, I. Chiral behaviour of the metabolite albendazole sulphoxide in sheep, goats and cattle. *Research in Veterinary Science*, Oxon, v. 50, n. 2, p. 134-138, 1991.

DU, T.; CHENG, J.; WU, M.; WANG, X.; HONGBIN, Z.; CHENG, M. An *in situ* probe immobilized solid phase microextraction based on molecularly imprinted polymer monolith for the selective determination of difenoconazole in running water and grape juice method. *Journal Chromatography B*, Amsterdam, v. 951-952, p. 104-109, 2014.

DU, T.; CHENG, J.; WU, M.; WANG, X.; ZHOU, H.; CHENG, M. An *in situ* immobilized pipette tip solid phase microextraction method based on molecularly imprinted polymer monolith for the selective determination of difenoconazole in tap water and grape juice. *Journal of Chromatography B*, Amsterdam, v. 951–952, p. 104–109, 2014.

DU, T.; CHENG, J.; WU, M.; WANG, X.; ZHOU, H.; CHENG, M. Pipette tip-based molecularly imprinted monolith for selective micro-solid-phase extraction of methomyl in environmental water. *Analytical Methods*, Amsterdam, v. 6, p. 6375-6380, 2014.

ERDJUMENT-BROMAGE, H.; LUI, M.; LACOMIS, L.; GREWALL, A.; ANNAN, R. S.; MCNULTY, D. E.; CARR, S. A.; TEMPST, P. Examination of micro-tip reversed-phase liquid chromatographic extraction of peptide pools for mass spectrometric analysis. *Journal of Chromatography A*, Amsterdam, v. 826, p. 167–181, 1998.

ERTL, G. Reactions at well-defined surfaces, *Surface Science*, Amsterdam, v. 299-300, p. 742-754, 1994.

FITOS, I.; VISY, J.; SIMONYI, M.; HERMANSSON, J. Separation of enantiomers of benzodiazepines on the Chiral-AGP column. *Journal of Chromatography A*, Amsterdam, v. 709, n. 2, p. 265-273, 1995.

FREUNDLICH, H. M. F. Over the adsorption in solution, *Journal of Physical Chemistry*, Washington, v. 57, p. 385-470, 1906.

FRITZ, J. S.; MACKA, M. Solid-phase trapping of solutes for further chromatographic or electrophoretic analysis. *Journal of Chromatography A*, Amsterdam, v. 902, n. 1, p. 137-166, 2000.

GONZALEZ-HERNANDEZ, I.; RUIZ-OLMEDO, M. I.; CARDENAS, G.; JUNG-COOK, H. A simple LC-MS/MS method to determine plasma and cerebrospinal fluid levels of albendazole metabolites (albendazole sulfoxide and albendazole sulfone) in patients with neurocysticercosis. *Biomedical chromatography*, NJ, v. 26, n. 2, p. 267-272, 2012.

GUAN, H.; BREWER, W. E.; GARRIS, S. T.; MORGAN, S. L. Disposable pipette extraction for the analysis of pesticides in fruit and vegetables using gas chromatography/mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, Amsterdam, v. 1217, n. 1867-1874, 2010.

HASEGAWA, C.; KUMAZAWA, T.; TERADA, M.; LEE, X. P.; SATO, K.; UCHIGASAKI, S.; KUROSAKI, K. A new method for quantitative determination of dimemorfan in human plasma using monolithic silica solid-phase extraction tips. *Legal Medicine*, Amsterdam, v. 14, p. 267-271, 2012.

HENNION, M. Solid-phase extraction: method development, sorbents, and coupling with liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, Amsterdam, v. 856, n. 1, p. 3-54, 1999.

HO, Y. S. Citation review of Lagergren kinetic rate equation on adsorption reactions, *Scientometrics*, Dordrecht, v. 59, n. 1, p. 171-177, 2004.

HO, Y. S. Review of second-order models adsorption systems, *Journal of Hazardous Materials*, Amsterdam, v. 136, n. 3, p. 681-689, 2006.

HO, Y. S.; MCKAY, G. Kinetic models for the sorption of dye from aqueous solution by wood, *Process Safety and Environmental Protection*, Rugby, v. 76, n. 2, p. 183-191, 1998

HO, Y. S.; MCKAY, G. Sorption of dye from aqueous solution by peat, *Chemical Engineering Journal*, Louzanne, v. 70, n. 2, p. 115-124, 1998.

HO, Y. S.; MCKAY, G. The kinetic of sorption of divalent metal ions onto sphagnum moss peat, *Water Research*, Oxford, v. 34, n. 3, p. 735-742, 2000.

HORTON, J. Albendazole: a review of anthelmintics efficacy and safety in humans. *Parasitology*, New York, v. 121, p. S113–S132, 2000.

HOUT, M. W. J.; EGMOND, W. M. A.; FRANKE, J. P.; ZEEUW, R. A.; JONG, G. J. Feasibility of the direct coupling of solid-phase extraction–pipette tips with a programmed-temperature vaporiser for gas chromatographic analysis of drugs in plasma. *Journal of Chromatography B*, Amsterdam, v. 766, p. 37–45, 2001.

HOUT, M. W. J.; ZEEUW, R. A.; JONG, G. J. Coupling device for desorption of drugs from solid-phase extraction-pipette tips and on-line gas chromatographic analysis. *Journal of Chromatography A*, Amsterdam, v. 858, p. 117–122, 1999.

HURTADO, M.; MEDINA, M. T.; SOTELO, J.; JUNG, H. Sensitive high-performance liquid chromatographic assay for albendazole and its main metabolite albendazole sulphoxide in plasma and cerebrospinal fluid. *Journal of Chromatography*, Amsterdam, v. 494, p. 403-407, 1989.

HYOTYLAINEN, T.; RIEKKOLA, M. L. Sorbent- and liquid-phase microextraction techniques and membrane-assisted extraction in combination with gas chromatographic analysis: A review. *Analytica Chimica Acta.*, Amsterdam, v. 614, p. 27–37, 2008.

JALBANI, N.; SOYLAK, M. A pipette tip multiwalled-carbon nanotube solid-phase extraction of lead in water and hair samples: application of the statistical Taguchi method to optimise the experimental variables. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, Amsterdam, v. 94, n. 14-15, p. 1435-1444, 2014.

JIANG, X.; TIAN, W.; ZHAO, C.; ZHANG, H.; LIU, M. A novel sol-gel material prepared by a surface imprinting technique for the selective solid-phase extraction of bisphenos A. *Talanta*, Amsterdam, v. 72, n. 1, p. 119-125, 2007.

KANG, X.; PAN, C.; XU, Q.; YAO, Y.; WANG, Y.; QI, D.; GU, Z. The investigation of electrospun polymer nanofibers as a solid-phase extraction sorbent for the determination of trazodone in human plasma. *Analytica Chimica Acta*, Amsterdam, v. 587, p. 75–81, 2007.

KATAOKA, H.; ISHIZAKI, A.; NONAKA, Y.; SAITO, K. Developments and applications of capillary microextraction techniques: A review. *Analytica Chimica Acta*, Amsterdam, v.655, p. 8–29, 2009.

KELLER-ENGHOLM, K.; LARSEN, M. R. Titanium dioxide as chemo-affinity chromatographic sorbent of biomolecular compounds — Applications in acidic modification-specific proteomics. *Journal of Proteomics*, Amsterdam, v. 75, p. 317–328, 2011.

KHATER, S.; OESTE, C. Development and validation of a supercritical fluid chromatography method for the direct determination of enantiomeric purity of provitamin B5 in cosmetic formulations with mass spectrometric detection. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, Amsterdam, v. 102, p. 321-325, 2015.

KITZMAN, D.; CHENG, K. J.; FLEXKENSTEIN, L. HPLC assay for albendazole and metabolites in human plasma for clinical pharmacokinetic studies. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, Amsterdam, v. 30, n. 3, p. 801-813, 2002.

KOYAMA, J.; TAKEUCHI, A.; TODE, C.; SHIMIZU, M.; MORITA, I.; NOBUKAWA, M.; NOBUKAWA, M.; KOBAYASHI, N. Development of an LC-ESI-MS/MS method for the determination of histamine: Application to the quantitative measurement of histamine degranulation by KU812 cells. *Journal of Chromatography B*, Amsterdam, v. 877, p. 207–212, 2009.

KUMAZAWA, T.; HASEGAWA, C.; LEE, X. P.; HARA, K.; SENO, H.; SUZUKI, O.; SATO, K. Simultaneous determination of methamphetamine and amphetamine in human urine using pipette tip solid-phase extraction and gas chromatography–mass spectrometry. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, Amsterdam, v. 44, p. 602–607, 2007.

KUMAZAWA, T.; HASEGAWA, C.; LEE, X. P.; MARUMO, A.; SHIMMEN, N.; ISHII, A.; SENO, H.; SATO, K. Pipette tip solid-phase extraction and gas chromatography–mass spectrometry for the determination of mequitazine in human plasma. *Talanta*, Amsterdam, v. 70, p. 474–478, 2006.

LACEY, E. Mode of action of benzimidazoles. *Parasitology Today*, Oxon, v. 6, n. 4, p. 112-115, 1990.

LANCHOTE, V. L.; MARQUES, M. P. C.; TAKAYANAGUI, O. M.; CARVALHO, R.; PAIAS, F. O.; BONATO, P. S. Simultaneous determination of albendazole sulfoxide

enantiomers and albendazole sulfone in plasma. *Journal Chromatography B*, Amsterdam, v. 709, n. 2, p. 273–279, 1998.

LANGMUIR, I. Langmuir, The adsorption of gases on plane surfaces of glass, mica and platinum, *Journal of the American Chemical Society*, New York, v. 40, n. 9, p. 1361-1403, 1961.

LEE, S. C.; CHUANG, F. L.; TSAI, Y. L.; CHEN, H. Studies on the preparation and properties of sol-gel molecularly imprinted polymer based on tetraethoxysilane for recognizing sulfonamides. *Journal of Polymer Research*, Netherlands, v. 17, n. 5, p. 737-744, 2010.

LI, Z.; QUAN, H.; GONG, C. B.; YANG, Y.; TANG, Q.; WEI, Y.; MA, X.; LAM, H. Photocontrolled solid-phase extraction of guanine from complex samples using a novel photoresponsive molecularly imprinted polymer. *Food Chemistry*, Oxon, v. 172, p. 56-62, 2015.

LINGEMAN, H.; HOEKSTRA-OUSSOREN, S. J. Particle-loaded membranes for sample concentration and/or clean-up in bioanalysis. *Journal of Chromatography B*, Amsterdam, v. 689, n. 1, p. 221-237, 1997.

LIU, S.; YAN, H.; WANG, M.; WANG, L. Water-Compatible Molecularly Imprinted Microspheres in Pipette Tip Solid-Phase Extraction for Simultaneous Determination of Five Fluoroquinolones in Eggs. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Amsterdam, v. 61, p. 11974-11980, 2013.

MATYSIAK, J.; HAJDUK, J.; PIETRZAK, L.; SCHMELZER, C. E. H.; KOKOT, Z. J. Shotgun proteome analysis of honeybee venom using targeted enrichment strategies. *Toxicon*, Amsterdam, v. 90, p. 255-264, 2014.

MERINO, G.; MOLINA, A. J.; GARCÍA, J. L.; PULIDO, M. M.; PRIETO, J. G.; ÁLVAREZ, A. I. Intestinal elimination of albendazole sulfoxide: pharmacokinetic effects of inhibitors. *International Journal of Pharmaceutics*, Amsterdam, v. 263, n. 1-2, p. 123–132, 2003.

MIRFAZAEIAN, A.; DADASHZADEH, S.; ROUINI, M. R. A high performance liquid chromatography method for simultaneous determination of albendazole metabolites in human serum. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, Amsterdam, v. 30, n. 4, p. 1249-1254, 2002.

MONTESANO, C.; SERGI, M.; ODOARDI, S.; SIMEONI, M. C.; CONPAGNONE, D.; CURINI, R. A μ -SPE procedure for the determination of cannabinoids and their metabolites in urine by LC–MS/MS. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, Amsterdam, v. 91, p. 169–175, 2014.

MORENO, L.; ECHEVARRIA, F., MUNOZ, F.; ALVAREZ, L.; SANCHEZ, S.; LANUSSE, C. Dosedependent activity of albendazole against benzimidazole-resistant nematodes in sheep: relationship between pharmacokinetics and efficacy. *Experimental Parasitology*, San Diego, v. 106, n. 3-4, p. 150–157, 2004.

NOVÁKOVÁ, L.; VLCKOVÁ, H. A review of current trends and advances in modern bio-analytical methods: Chromatography and sample preparation. *Analytica Chimica Acta*, Amsterdam, v. 656, p. 8–35, 2009.

PAIAS, F. O.; LANCHOTE, V. L.; TAKAYANAGUI, P. S.; BONTATO, P. S. Enantioselective analysis of albendazole sulfoxide in plasma using the chiral stationary phase. *Chirality*, Amsterdam, v. 9, n. 8, p. 722-726, 1997.

PANHWAR, A. H.; KAZI, T. G.; AFRIDI, H. I.; ARAIN, S. A.; NAEEMULLAH; BRAHMAN, K. D.; ARAIN, M. S. A new solid phase microextraction method using organic ligand in micropipette tip syringe system packed with modified carbon cloth for preconcentration of cadmium in drinking water and blood samples of kidney failure patients. *Spectro chimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, Amsterdam, v.138, p. 296–302, 2015.

PENA-ABAURREA, M.; TORRE, V. S. G.; RAMOS, L. Ultrasound-assisted extraction followed by disposable pipette purification for the determination of polychlorinated biphenyls in small-size biological tissue samples. *Journal of Chromatography A*, Amsterdam, v. 1317, p. 223–229, 2013.

PLAZINSKI, W.; RUDZINSKI, W.; PLAZINSKA, A. Theoretical models of sorption kinetics including a surface reaction mechanism: A review, *Journal of Colloid and Interface Science*, San Diego, v. 152, n. 1-2, p. 2-13, 2009.

PODHORNIAK, L. V. The Use of Dispersive Pipet Extraction (DPX) Tips for the Sample Cleanup of Apples, Pears, and Oranges in the Analysis of Formetanate HCl, *Journal of AOAC International*, Amsterdam, v. 97, n. 3, p. 942-945, 2014.

PROCHAZKOVA, A.; CHOUKIY, M.; THEURILLAT, R.; THORMANN, W. Therapeutic drug monitoring of albendazole: determination of albendazole, albendazole sulfoxide, and albendazole sulfone in human plasma using nonaqueous capillary electrophoresis. *Electrophoresis*, Amsterdam, v. 21, n. 4, p. 729-736, 2000.

QUEIROZ, S. C. N.; COLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F. Métodos de extração e/ou concentração de compostos encontrados em fluidos biológicos para posterior determinação cromatográfica. *Química Nova*, São Paulo, v. 24, n. 1, p. 68-76, 2001.

RAMOS, L. Critical overview of selected contemporary sample preparation techniques. *Journal of Chromatography A*, Amsterdam, v. 1221, p. 84–98, 2012.

RENTSCH, K. M. The importance of stereoselective determination of drugs in the clinical laboratory. *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*, Amsterdam, v. 54, n. 1, p. 1-9, 2002.

RIESOVÁ, M.; GERYK, R.; KELIKOVÁ, K.; SLECHTOVÁ, T.; VOBORNÁ, M.; MARTINKOVÁ, M.; BYDZOVSÁ, A.; TEZAROVÁ, E. Direct CE and HPLC methods for enantioseparation of tryptophan and its unnatural derivatives. *Separation and Purification Technology*, Amsterdam, v. 158, p. 24-30, 2016.

RUDZINSKI, W.; PANCZYK, T. Kinetics of isothermal adsorption on energetically heterogeneous solid surfaces: a new theoretical description based on the statistical rate theory of interfacial transport, *The Journal of Physical Chemistry B*, London, v. 104, n. 39, p. 9149-9162, 2000.

RUDZINSKI, W.; PLAZINSKI, W. Kinetics of dyes adsorption at the solid-solution interfaces: a theoretical description based on the Two-step kinetic model, *Environmental Science Technology*, London, v. 42, n. 7, p. 2470-2475, 2008.

RUDZINSKI, W.; PLAZINSKI. Studies of the kinetics of solute adsorption at solid/solution interfaces: on the possibility of distinguishing between the diffusional and the surface reaction kinetic models by studying the pseudo-first-order kinetics, *The Journal of Physical Chemistry*, London, v. 111, n. 41, p. 15100-15110, 2007.

SABIK, H.; JEANNOT, R.; RONDEAU, B. Multiresidue methods using solid-phase extraction techniques for monitoring priority pesticides, including triazines and degradation products, in ground and surface Waters. *Journal of Chromatography A*, Amsterdam, v. 885, n. 1-2, p. 217-236, 2000.

SARIN, R.; DASH, A. P.; DUA, V. K. Albendazole sulphoxide concentrations in plasma of endemic normal from a lymphatic filariasis endemic region using liquid chromatography. *Journal of Chromatography B*, Amsterdam, v. 799, n. 2, p 233–238, 2004.

SCIFINDER. Disponível em < <https://scifinder.cas.org> >. Acesso em: 15 de março de 2016.

SHEN, J. X.; TAMA, C. I.; HAYES, R. N. Evaluation of automated micro solid phase extraction tips (μ -SPE) for the validation of a LC–MS/MS bioanalytical method. *Journal of Chromatography B*, Amsterdam, v. 843, p. 275–282, 2006.

SHEN, Q.; DONG, W.; WANG, Y.; GONG, L.; DAI, Z.; CHEUNG, H. I. Pipette tip solid-phase extraction and ultra-performance liquid chromatography/mass spectrometry based rapid analysis of picrosides from *Picrorhizascrophulariiflora*. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, Amsterdam, v. 80, p. 136-140, 2013.

SHEN, Q.; GONG, L.; BAIBADO, J. T.; DONG, W.; WANG, Y.; DAI, Z.; CHEUNG, H. Y. Graphene based pipette tip solid phase extraction of marine toxins in shellfish muscle followed by UPLC–MS/MS analysis. *Talanta*, Amsterdam, v. 116, p. 770–775, 2013.

SOLANA, H. D.; RODRIQUEZ, J. A.; LANUSSE, C. Comparative metabolism of albendazole and albendazole sulphoxide by different helminth parasites. *Parasitology Research*, New York, v. 87, n. 4, p. 275–280, 2001.

SPIETELUN, A.; MARCINKOWSKI, L.; GUARDIA, M.; NAMIÉSNIK, J. Recent developments and future trends in solid phase microextraction techniques towards green analytical chemistry. *Journal of Chromatography A*, Amsterdam, v. 1321, p. 1– 13, 2013.

SUN, N.; HAN, Y.; YAN, H.; SONG, Y. A self-assembly pipette tip graphene solid-phase extraction coupled with liquid chromatography for the determination of three sulfonamides in environmental water. *Analytica Chimica Acta*, Amsterdam, v. 810, p. 25– 31, 2014.

THEODORIDIS, G.; KOSTER, E. H. M.; JONG, G. J. Solid-phase microextraction for the analysis of biological samples. *Journal of Chromatography B*, Amsterdam, v. 745, p. 49–82, 2000.

TIAN, T.; ZHENG, S.; YE, B.; QU, B.; ZHAO, Y.; KANG, X.; GU, Z. Poly-3,4-ethylenedioxythiophene nanoclusters for high effective solid phase extraction. *Journal of Chromatography A*, Amsterdam, v. 1275, p. 17– 24, 2013.

-
-
- VALOIS, M. E. C.; TAKAYANAGUI, O. M.; BONATO, P. S.; SANCHOTE, V. L.; CARVALHO, D. Determination of albendazole metabolites in plasma by HPLC. *Journal of Analytical Toxicology*, Cary, v. 18, n. 2, p. 86-90, 1994.
- VUCKOVIC, D. High-throughput solid-phase microextraction in multi-well-plate format. *Trends in Analytical Chemistry*, Oxon, v. 45, p. 136-153, 2013.
- WANG, H.; HUANG, X.; WANG, X.; ZHANG, Y.; WU, R.; SHOU, D. Pipette tip solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography for the determination of flavonoids from *Epimediherba* in rat serum and application of the technique to pharmacokinetic studies. *Journal of Chromatography B*, Amsterdam, v. 990, p. 64–72, 2015.
- WANG, H.; SO, P. K.; NG, T. T.; YAO, Z. P. Rapid analysis of raw solution samples by C18 pipette-tip electrospray ionization mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, Amsterdam, v. 844, p. 1–7, 2014.
- WANG, L.; WANG, M.; YAN, H.; YUAN, Y.; TIAN, J. A new graphene oxide/polypyrrole foam material with pipette-tip solid-phase extraction for determination of three auxins in papaya juice. *Journal of Chromatography A*, Amsterdam, v. 1368, p. 37–43, 2014.
- WANG, M.; YAN, H.; YUAN, Y.; HAN, Y. Pipette-tip solid-phase extraction by use of a sol–gel hybrid adsorbent: a new pretreatment strategy for rapid screening of cucumbers for cyanazine and atrazine. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, Amsterdam, v. 407, p. 1231-1239, 2015.
- WEBER, W. J.; MCGINLEY, P. M.; KATZ, L. E. Sorption phenomena in subsurface systems: concepts, models and effects on contaminant fate and transport: Review paper, *Water Research*, Oxford, v. 25, n. 5, p. 499-528, 1991.
- WEBER, W. J.; MORRIS, J. C. Kinetics of adsorption on carbon from solution, *Journal of the Sanitary Engineering Division*, London, v. 89, n. 2, p. 31-60, 1963.
- WU, F. C.; TSENG, R. L.; JUANG, R. S. Characteristics of Elovich equation used for the analysis of adsorption kinetics in dye-chitosan systems, *Chemical Engineering Journal*, London, v. 150, n. 2-3, p. 366-373, 2009.
- WU, F. C.; TSENG, R. L.; JUANG, R. S. Initial behavior of intraparticle diffusion model used in the description of adsorption kinetics, *Chemical Engineering Journal*, Luisanne, v. 153, n. 1-3, p. 1-8, 2009.
-
-

YAN, H.; SUN, N.; LIU, S.; ROW, K. H.; SONG, Y. Miniaturized graphene-based pipette tip extraction coupled with liquid chromatography for the determination of sulfonamide residues in bovine milk. *Food Chemistry*, Amsterdam, v. 158, p. 239–244, 2014.

YAN, H.; YANG, C.; SUN, Y.; ROW, K. H. Ionic liquid molecularly imprinted polymers for application in pipette-tip solid-phase extraction coupled with gas chromatography for rapid screening of dicofol in celery. *Journal of Chromatography A*, Amsterdam, v. 1361, p. 53-59, 2014.

ZHANG, W.; CHEN, Z. Preparation of micropipette tip-based molecularly imprinted monolith for selective micro-solid phase extraction of berberine in plasma and urine samples. *Talanta*, Amsterdam, v. 103, p. 103–109, 2013.

ZHOU, J.; MA, C.; ZHOU, S.; MA, P.; CHEN, F.; QI, Y.; CHEN, H. Preparation, evaluation and application of molecularly imprinted solid-phase microextraction monolith for selective extraction of pirimicarb in tomato and pear. *Journal of Chromatography A*, Amsterdam, v. 1217, p. 7478–7483, 2010.

ZHU, G. T.; HE, X. M.; LI, X. S.; WANG, S. T.; LUO, Y. B.; YUAN, B. F.; FENG, Y. Q. Preparation of mesoporous silica embedded pipette tips for rapid enrichment of endogenous peptides. *Journal of Chromatography A*, Amsterdam, v. 1316, p. 23– 28, 2013.

ZONGDE, Z.; XINGPING, L.; XIAOMEI, W.; HONG, Z.; YANPING, S.; LIREN, C.; YONGMIN, L. Analytical and semipreparative resolution of enantiomers of albendazole sulfoxide by HPLC on amylose tris (3,5-dimethylphenylcarbamate) chiral stationary phases. *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*, Amsterdam, v. 62, n. 1, p. 69-79, 2005.
