



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

MADSON MOREIRA NASCIMENTO

**DETERMINAÇÃO DE POLUENTES ORGÂNICOS PERSISTENTES EM
AMOSTRAS DE ÁGUA ATRAVÉS DA EXTRAÇÃO EM FASE MICRO-
SÓLIDA DISPERSIVA, SEGUIDA POR CROMATOGRAFIA EM FASE
GASOSA COM DETECÇÃO POR ESPECTROMETRIA DE MASSAS**

Salvador

2021

MADSON MOREIRA NASCIMENTO

DETERMINAÇÃO DE POLUENTES ORGÂNICOS PERSISTENTES EM AMOSTRAS DE ÁGUA ATRAVÉS DA EXTRAÇÃO EM FASE MICRO-SÓLIDA DISPERSIVA, SEGUIDA POR CROMATOGRAFIA EM FASE GASOSA COM DETECÇÃO POR ESPECTROMETRIA DE MASSAS

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal da Bahia como requisito para obtenção do grau de Doutor em Química Analítica.

Área de concentração: Química Analítica

Orientadora: Profa. Dra. Gisele Olimpio da Rocha

Co-orientador: Prof. Dr. Jailson Bittencourt de Andrade

Salvador

2021

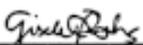


TERMO DE APROVAÇÃO

MADSON MOREIRA NASCIMENTO

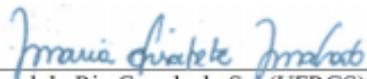
“DETERMINAÇÃO DE POLUENTES ORGÂNICOS PERSISTENTES EM AMOSTRAS DE ÁGUA ATRAVÉS DA EXTRAÇÃO EM FASE MICRO-SÓLIDA DISPERSIVA, SEGUIDA POR CROMATOGRAFIA EM FASE GASOSA COM DETECÇÃO POR ESPECTROMETRIA DE MASSAS”

Tese aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor(a) em Química, Universidade Federal da Bahia, pela seguinte banca examinadora:

Prof. Dr. Gisele Olímpio da Rocha 
Doutorado em Química, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP)
Universidade Federal da Bahia

Prof. Dr. Jailson Bittencourt de Andrade 
Doutorado em Química, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro (PUC-Rio)
SENAI-CIMATEC

Prof. Dr. Emanuel Carrilho 
Doutorado em Ciências pela Northeastern University Graduate School Of Arts And Sciences,
Estados Unidos
Universidade de São Paulo

Prof. Dr. Maria Elisabete Machado 
Doutorado em Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)
Universidade Federal da Bahia

Prof. Dr. Sergio Luis Costa Ferreira 
Doutorado em Química, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro (PUC-Rio)
Universidade Federal da Bahia

Prof. Dr. Marco Tadeu Grassi 
Doutorado em Química, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP)
Universidade Federal do Paraná

Salvador, 26 de abril de 2021.



Emitido em 26/04/2021

TERMO DE CONSENTIMENTO Nº 3/2021 - IQUI (12.01.15)

(Nº do Protocolo: NÃO PROTOCOLADO)

(Assinado eletronicamente em 15/07/2021 10:45)

LUCIANA SANTOS DA SILVA

ASSISTENTE EM ADMINISTRACAO

2048239

Para verificar a autenticidade deste documento entre em <https://sipac.ufba.br/documentos/> informando seu número: 3,
ano: 2021, tipo: **TERMO DE CONSENTIMENTO**, data de emissão: 15/07/2021 e o código de verificação:
f0178cf594

N244 Nascimento, Madson Moreira

Determinação de poluentes orgânicos persistentes em amostras de água através da extração em fase micro-sólida dispersiva, seguida por cromatografia em fase gasosa com detecção por espectrometria de massas/ Madson Moreira Nascimento. – Salvador, 2021.

235 f.

Orientadora: Prof^a. Dr^a Gisele Olímpio da Rocha

Coorientador: Prof. Dr. Jailson Bittencourt de Andrade

Tese (Doutorado) – Universidade Federal da Bahia.
Instituto de Química, 2021.

1. Compostos orgânicos. 2. Cromatografia. 3. Agrotóxicos.
4. Espectrometria de massas I. Rocha, Gisele Olímpio da. II.
Andrade, Jailson Bittencourt. IV. Universidade Federal da Bahia.
III. Título.

CDU 543.6

Dedico este trabalho à minha família,
especialmente minha mãe Marise Maria
Moreira (*in memoriam*).

“If I have seen further, it is by standing upon the shoulders of giants”.

Isaac Newton.

Agradecimentos

Às agências de fomento: CNPq (141855/2017-7, bolsa de doutorado), CAPES, FAPESB e FINEP (Projeto GASBRAS, 01.14.0215.00) pelo suporte financeiro para o desenvolvimento deste trabalho.

Ao Programa de Pós-Graduação em Química do Instituto de Química da Universidade Federal da Bahia pela oportunidade de desenvolver este projeto de Teste.

À minha família, especialmente minha noiva Melise pela paciência e todo suporte dado durante este período. Também meu pai Wilson e minha sogra Hélia Lemos.

À Profa. Dra. Gisele Olímpio da Rocha pela valiosa orientação, conselhos, incentivo, amizade e disponibilidade para discutir assuntos diversos relacionados ao trabalho e à pesquisa científica.

Ao Prof. Dr. Jailson Bittencourt de Andrade. A ele agradeço a oportunidade concedida, a agradável companhia e amizade, e toda a confiança depositada em mim para desenvolver muitas de suas brilhantes ideias. Sua ética, responsabilidade e imensa sabedoria me fizeram admirá-lo e tomá-lo como exemplo para minha vida pessoal e profissional.

Ao Prof. Dr. Pedro Afonso pela amizade e pela oportunidade de trabalharmos juntos durante a minha participação no projeto GASBRAS.

Ao Prof. Dr. Raildo Mota de Jesus, que mesmo não fazendo parte desta Tese diretamente foi de fundamental importância em minha formação acadêmica.

À Profa. Dra. Maria Elisabete pela amizade, disponibilidade para discutir assuntos sobre trabalhos diversos e a sempre boa convivência.

Aos amigos do Lab 11 e 12 do CIEnAm, especialmente Sabrina, Mikhael, Aldo, Jean, Leila Oliveira, Robson e Caio, pela valiosa amizade durante todo esse período. Também Marcela, Elisvan, Rocio, Pedro e Maria Cláudia. Aos amigos do LPQ - Instituto de Química, especialmente Nina, Ana Carla, Grazielle, Também a Elisson, Klebson, Dalila, Leila Maria, Tamires, Milena e Eliane.

Aos amigos do Lab 07 e 08 do CIEnAm, especialmente Daniele, Rodrigo, Manu, Raiza e Ana, pela amizade e ajuda em muitos momentos, e a Profa. Dra. Vanessa Hatje, coordenadora destes laboratórios.

Ao Sr. Dorisvaldo, pela indispensável ajuda na manutenção dos equipamentos e por compartilhar seu vasto conhecimento sobre variadas técnicas instrumentais de análise química.

Aos servidores da UFBA, especialmente José Valmi e Francisco Andrade, pela grande ajuda durante os trabalhos burocráticos e a valiosa amizade e companheirismo. Agradeço também os funcionários da portaria do CIEnAm I, Luiz e Wallace, bem como os funcionários da limpeza Silvia e Paulo.

Ao Núcleo de Marketing e Comunicação do SENAI CIMATEC pelo auxílio na montagem de algumas ilustrações desta Tese.

À Marinha do Brasil e ao Projeto PIRATA por todo suporte dado durante a expedição a bordo do Navio Oceanográfico Vital de Oliveira.

A todos que direta e indiretamente contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.1 – Classificação dos agrotóxicos de acordo com os critérios de toxicidade da WHO.....	27
Tabela 1.2 – Propriedades físicas e químicas de alguns agrotóxicos organoclorados investigados neste estudo.....	29
Tabela 1.3 – Propriedades físico-químicas de alguns agrotóxicos organofosforados em desuso ou que são atualmente empregados no Brasil (continua).....	33
Tabela 1.4 – Propriedades físico-químicas de alguns agrotóxicos do grupo dos piretróides, carbamatos, triazinas, triazóis e estrobirulinas, descontinuados ou que são atualmente empregados no Brasil (continua).....	36
Tabela 1.5 – Propriedades físico-químicas de alguns CPAs investigados neste estudo (continua).....	43
Tabela 1.6 – Propriedades físico-químicas de alguns solventes utilizados com frequência na extração de poluentes orgânicos.....	60
Tabela 1.7 – Parâmetros da ANOVA para validação de modelos matemáticos.....	75
Tabela 2.1 – Condições cromatográficas e parâmetros do espectrômetro de massas para a análise em modo SIM (continua).....	101
Tabela 2.2 – Fração-meia do planejamento fatorial fracionário de resolução IV (2^{4-1}) e a resposta múltipla (RM) para cada experimento. Os valores reais são mostrados entre parênteses ao lado dos valores codificados.....	118
Tabela 2.3 – ANOVA ($p < 0,05$) para o modelo linear do planejamento fatorial fracionário de resolução IV.....	120
Tabela 2.4 – Matriz de Doehlert com três variáveis e a resposta múltipla. Os valores reais são mostrados entre parênteses.....	122
Tabela 2.5 – ANOVA ($p < 0,05$) para o modelo quadrático ajustado.....	123
Tabela 2.6 – Parâmetros de validação do procedimento analítico (continua).....	132
Tabela 2.7 – Comparação dos parâmetros analíticos do procedimento desenvolvido com outros estudos publicados.....	134
Tabela 2.8 – Recuperações relativas de HPAs, nitro-HPAs e quinonas. Os resultados são expressos em média ($n = 3$) e desvio padrão relativo (RSD%) (continua).....	139
Tabela 2.9 – Concentração \pm desvio padrão de alguns HPAs (ng L^{-1}), nitro-HPAs ($\mu\text{g L}^{-1}$) e quinonas ($\mu\text{g L}^{-1}$) nas amostras de água analisadas (A). B) Faixa de	

concentração de HPAs, nitro-HPAs e quinonas nas amostras reais de água e comparação com estudos recentes (continua).....	144
Tabela 3.1 – Tempo de retenção e principais fragmentos de massa usados na aquisição de dados (SIM).....	160
Tabela 3.2 . A) Matriz de dados obtida do planejamento de mistura simplex-centróide. B) Análise de Variância (ANOVA, <math><0,05</math>).	176
Tabela 3.3 . – ANOVA ($p<0,05$) aplicada ao modelo linear do planejamento fatorial completo 2^3	181
Tabela 3.4 . – Matriz do planejamento Doehlert para otimização da extração dos agrotóxicos por D- μ -SPE. Os valores experimentais dos fatores codificados são mostrados entre parênteses. B) ANOVA ($p <0,05$) do modelo matemático obtido a partir da matriz de Doehlert.	183
Tabela 3.5 – Parâmetros de validação do procedimento desenvolvido (continua)..	192
Tabela 3.6 – Comparação do desempenho analítico do procedimento desenvolvido com outros trabalhos publicados recentemente.	195
Tabela 3.7 – Recuperações relativas (média \pm RSD, $n = 3$) obtidas pela aplicação do procedimento proposto na extração de agrotóxicos de amostras de água doce e do mar. *Os valores de recuperação para esses agrotóxicos foram obtidos a partir de amostras em níveis de concentração de 75 ng L^{-1} e na faixa de 300 ng L^{-1}	197
Tabela 3.8 – Concentração (média \pm desvio padrão, $n=3$) dos agrotóxicos nas amostras de água analisadas e recuperações dos padrões surrogates adicionados em cada uma das amostras.	200

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1 – Reação de hidrólise da acetilcolina na presença da enzima acetilcolinesterase.....	31
Figura 1.2 – Estruturas dos HPAs prioritários da USEPA. *HPAs de elevada massa molar.	41
Figura 1.3 – Estruturas químicas de algumas quinonas investigadas neste estudo.	46
Figura 1.4 – Estrutura de alguns nitro-HPAs investigados neste estudo.....	48
Figura 1.5 – Procedimento de extração por DLLME com um dispositivo de extração em forma de seringa. A: introdução da amostra de água no dispositivo. B: adição do solvente extrator e do solvente dispersor. C: formação da fase orgânica na parte superior da solução. D: Adição de água na solução visando deslocar a fase orgânica para o tubo estreito na parte superior do dispositivo. E: coleta da fase orgânica com uma microsseringa e posterior injeção em um sistema de cromatografia a gás.	63
Figura 1.6 – Dispositivo baseado em uma seringa de polietileno utilizado para extração de clorofenóis em urina por D- μ SPE. 1A (i) fibra de algodão para filtração da amostra. 1A(ii) fibra de carbono. 1B seringa com ponteira de micropipeta e algodão, utilizados como fitro.....	65
Figura 1.7 – Esquema de extração utilizando um dispositivo de tubo estreito.	66
Figura 1.8 – Desenho estabelecido para a matriz de Doehlert com A) dois e B) três fatores. Em A) podem ser observadas diferentes possibilidades deslocando-se os pontos iniciais usando pontos prévios.....	72
Figura 1.9 – Desenho esquemático de um planejamento de misturas com três componentes do tipo centroide-simplex.	73
Figura 2.1 – Dimensões do dispositivo de extração para D- μ -DPE.	104
Figura 2.2 – Dispositivos de dessorção em microescala utilizados no estudo. O dispositivo A foi construído inteiramente de polipropileno e o dispositivo B apresenta uma câmara de vidro borossilicato e êmbolo de polipropileno.....	105
Figura 2.3 – Esquema geral da extração D- μ SPE empregando o procedimento proposto.	112
Figura 2.4 – Avaliação do tipo do sorvente. A) efeito do tipo do sorvente na resposta dos HPAs e quinonas. B) efeito do tipo do sorvente na resposta dos nitro-HPAs...	115

Figura 2.5 – Efeito da massa do sorvente na resposta dos analitos. A) Áreas de pico para os HPAs e quinonas. B) Áreas de pico para os nitro-HPAs.	116
Figura 2.6 – Gráfico de Pareto de efeitos padronizados	119
Figura 2.7 – Gráficos de valores preditos vs observados (A) e valores observados vs resíduos (B) para o modelo linear do planejamento fatorial fracionário.	121
Figura 2.8 – Gráficos de valores preditos vs observados (A) e valores observados vs resíduos (B) para o modelo quadrático.	123
Figura 2.9 – Superfície de resposta e curvas de nível para a matriz de Doehlert. A) $RM = f(\text{tempo de extração}; \text{tempo de dessorção})$; B) $RM = f(\text{NaCl}; \text{tempo de dessorção})$; C) $RM = f(\text{NaCl}, \text{tempo de extração})$	126
Figura 2.10 – Avaliação do efeito do solvente na dessorção dos CPAs. As respostas são dadas em área de pico para: (A) HPAs e quinonas (B) nitro-HPAs.....	128
Figura 2.11 – Avaliação do volume da amostra. As respostas são dadas em áreas de pico para: (A) HPAs, (B, C e D) quinonas e (E e F) nitro-HPAs.	130
Figura 2.12 – Cromatograma de GC-MS (SIM) obtido de uma solução padrão mista contendo HPAs, nitro-HPAs e quinonas na concentração de $70 \mu\text{g L}^{-1}$, $200 \mu\text{g L}^{-1}$ e $1000 \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente.	141
Figura 3.1 – Esquema geral do procedimento de extração desenvolvido. O dispositivo de extração possui as seguintes dimensões: um comprimento total de 150 mm, uma abertura superior de 20 mm e um tubo conectado de 4,5 mm com uma abertura inferior de 9,0 mm.	168
Figura 3.2 – Cromatograma de uma solução padrão de 600 ng L^{-1} contendo todos os agrotóxicos extraídos de água ultrapura. A análise foi realizada por GC-MS em modo SIM.....	170
Figura 3.3 –Avaliação de diferentes sorventes para extração de agrotóxicos. A) Extração de agrotóxicos organofosforados, piretróides, estrobirulinas, triazóis, carbamatos e tiocarbamatos. B) Extração de agrotóxicos organoclorados.....	173
Figura 3.4 – Gráficos de valores preditos vs observados (A) e valores observados vs resíduos para o modelo cúbico especial do planejamento de misturas	177
Figura 3.5 –Planejamento de misturas centróide-simplex para otimização das proporções dos sorventes na extração dos agrotóxicos. A) Gráfico de curvas de nível mostrando valores de resposta para o uso de sorventes puros, mistura binária e mistura ternária. B) Gráfico de estimativa de respostas.	178

Figura 3.6 – Gráfico de Pareto de efeitos padronizados.	179
Figura 3.7 – Gráficos de valores preditos vs observados (A) e valores observados vs resíduos para o modelo linear do planejamento fatorial completo 2^3	181
Figura 3.8 – Gráficos de valores preditos vs observados (A) e valores observados vs resíduos (B) para o modelo quadrático.	184
Figura 3.9 – Superfície de resposta e curvas de nível obtidas da matriz de Doehlert. A) $RM = f(\text{tempo de extração; NaCl})$. B) $RM = f(\text{tempo de dessorção; NaCl})$. C) $RM = f(\text{tempo de extração; tempo de dessorção})$	185
Figura 3.10 – Estudo do solvente de dessorção. A) Área de pico para os agrotóxicos organofosforados, piretróides, estrobirulinas, triazóis e tiocarbamatos. B) Área de pico para os agrotóxicos organoclorados.	187
Figura 3.11 – Estudo do volume da amostra. A) Recuperação da extração para os agrotóxicos organofosforados, piretróides, estrobirulinas, triazóis e tiocarbamatos. B) Recuperação da extração para agrotóxicos organoclorados.	189
Figura 3.12 – Cromatograma de uma amostra de água doce obtida a partir da análise por GC-MS em modo SIM. A) Cromatograma de uma amostra de água doce enriquecida com 300 ng L^{-1} de solução dos agrotóxicos. B) Uma amostra real de água doce.	201
Figura 4.1 – Desenho técnico do Dispositivo de Três Vias Para Filtração e Microextração Sólido-Líquido. A) Dispositivo com todas as partes encaixas (vista lateral). B) Dispositivo com as partes separadas (vista superior). C) Dispositivo com as partes separadas (vista lateral).	213
Figura 4.2 – Primeiro protótipo do Dispositivo de Três Vias Para Filtração e Microextração Sólido-Líquido impresso em 3D com polímero PEEK. A) visualização da parte superior do protótipo com a câmara de filtração interna semifechada. B) vista lateral. C) vista lateral do protótipo fechado (filtração). F) perfeita adequação do dispositivo no autoamostrador do GC-MS, com dimensões similares a um vial de cromatografia.	217
Figura 4.3 – Fator de pré-concentração calculado para os HPAs prioritários extraídos da amostra teste utilizando o protótipo do Dispositivo de Três Vias Para Filtração e Microextração Sólido-Líquido.	218

LISTA DE ABREVIATURAS

1,4-NQ: 1,4-Naftoquinona

1-Methyl-4-NNap: 1-Metil-4-nitronaftaleno

1-Methyl-5-NNap: 1-Metil-5-nitronaftaleno

1-Methyl-6-NNap: 1-Metil-6-nitronaftaleno

1-NNap: 1-Nitronaftaleno

2-Methyl-4-NNap: 2-Metil-4-nitronaftaleno

2-NBP: 2-Nitrobifenil

2-NFlu: 2-Nitrofluoreno

2-NNap: 2-Nitronaftaleno

5-NAce: 5-Nitroacenafteno

9,10-AQ: 9,10-Antraquinona

9,10-PQ: 9,10-Fenantrenequinona

Ace: Acenafteno

AcEt: Acetato de etila

ACN: Acetonitrila

Acy: Acenaftileno

Ant: Antraceno

BaA: Benzo[*a*]antraceno

BaP: Benzo[*a*]pireno

BbF: Benzo[*b*]fluoreno

BgP: Benzo[*ghi*]perileno

BkF: Benzo[*k*]fluoranteno

Cor: Coroneno

CPAs: Compostos policíclicos aromáticos

Cry: Criseno

D- μ -SPE: Extração em fase micro-sólida dispersiva

DbA: Dibenzo[*a,h*]antraceno

DLLME: Microextração líquido-líquido dispersiva

FC: Fator de pré-concentração

Flt: Fluoranteno

Flu: Fluoreno

Flu-d₁₀: Fluoreno-d₁₀

GC: Cromatografia a gás

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

HPAs: Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos

Ind: Indeno[1,2,3-cd]pireno

K_{oc}: Coeficiente de partição octanol-carbono

K_{ow}: Coeficiente de partição octanol-water

LC: Cromatografia a líquido

LD: Limite de detecção

LLE: Extração líquido-líquido

LQ: Limite de quantificação

MeOH: Metanol

MQ_{ep}: Média quadrática do erro puro

MQ_{faj}: Média quadrática da falta de ajuste

MQ_R: Média quadrática da regressão

MQ_r: Média quadrática dos resíduos

Nap: Naftaleno

Nitro-HPAs: Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos nitrados

Oxi-HPAs: Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos oxigenados

Phe: Fenantreno

Pyr: Pireno

Pyr-d₁₀: Pireno-d₁₀

RE: Recuperação da extração

SPE: Extração em fase sólida

SQ_{ep}: Soma quadrática do erro puro

SQ_{faj}: Soma quadrática da falta de ajuste

SQ_R: Soma quadrática da regressão

SQ_r: Soma quadrática dos resíduos

SQ_T: Soma quadrática total

SUMÁRIO

RESUMO

ABSTRACT

INTRODUÇÃO GERAL.....	22
CAPÍTULO I – REVISÃO DA LITERATURA	24
1.1 POLUENTES ORGÂNICOS: CLASSIFICAÇÃO, PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS E OCORRÊNCIA EM CORPOS D'ÁGUA	25
1.1.1 Agrotóxicos.....	25
1.1.1.1 Comércio global e uso no Brasil	25
1.1.1.2 Classificação e propriedades físico-químicas.....	26
1.1.1.3 Dinâmica e ocorrência de agrotóxicos nos corpos d'água	39
1.1.2 Compostos Policíclicos Aromáticos.....	40
1.1.2.1 HPAs	41
1.1.2.2 Quinonas	46
1.1.2.3 Nitro-HPAs.....	48
1.1.3 Ocorrência de CPAs no ambiente aquático	49
1.2 EXTRAÇÃO DE POLUENTES ORGÂNICOS EM MEIO AQUOSO	51
1.2.1 Fundamentos da extração em meio aquoso.....	51
1.2.2 Extração em fase micro-sólida dispersiva (D- μ SPE).....	52
1.2.2.1 Fatores que afetam a eficiência D- μ SPE	54
1.4 Técnicas de planejamento de experimentos.....	67
1.4.1 Fundamentos	67
1.4.2 Matriz de Doehlert	71
1.4.3 – Planejamento de misturas	72
1.4.4 Validação dos modelos matemáticos.....	74
1.5 Técnicas cromatográficas aplicadas a determinação de poluentes orgânicos ...	77
1.6 REFERÊNCIAS	81
CAPÍTULO II – DESENVOLVIMENTO DE UM PROCEDIMENTO DE EXTRAÇÃO EM FASE MICRO-SÓLIDA DISPERSIVA PARA DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS POLICÍCLICOS AROMÁTICOS EM AMOSTRAS DE ÁGUA DOCE E ÁGUA DO MAR	95
2.1 INTRODUÇÃO	96
2.1.1 OBJETIVOS.....	98
2.1.1.1 Objetivo Geral	98
2.1.1.1.1 Objetivos específicos	98
2.2 MATERIAIS E MÉTODOS	99

2.2.1 Reagentes e soluções	99
2.2.2 Instrumentação	100
2.2.3 Amostragem	103
2.2.4 Dispositivos de extração para EF- μ SD e micro-dessorção	103
2.2.5 Otimização do procedimento de extração	106
2.2.5.1 Escolha do tipo e da quantidade do sorvente.....	106
2.2.5.2 Otimização multivariada.....	107
2.2.5.3 Escolha do solvente de dessorção.....	107
2.2.6 Protocolos de garantia e controle de qualidade	108
2.2.7 Validação do procedimento analítico	109
2.2.8 Aplicação do procedimento analítico em amostras reais	110
2.2.9 Tratamento de dados	113
2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	114
2.3.1 Otimização da extração EF- μ SD.....	114
2.3.1.1 Avaliação do tipo e massa do sorvente	114
2.3.1.2 Otimização multivariada.....	117
2.3.2 Avaliação do solvente de dessorção	127
2.3.3 Avaliação do volume da amostra	129
2.3.4 Validação e avaliação da eficiência do procedimento analítico	131
2.3.5 Aplicação do procedimento desenvolvido em amostras reais.....	141
2.3.6 Vantagens e desvantagens do procedimento desenvolvido.....	146
2.4 CONCLUSÃO	147
2.5 REFERÊNCIAS	148
CAPÍTULO III – DESENVOLVIMENTO DE UM PROCEDIMENTO DE EXTRAÇÃO EM FASE MICRO-SÓLIDA DISPERSIVA COMBINADO COM UMA ETAPA DE MICRO-DESSORÇÃO PARA A DETERMINAÇÃO SIMULTÂNEA DE 39 RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS MULTICLASSE EM AMOSTRAS DE ÁGUA.....	154
3.1 INTRODUÇÃO	155
3.1.1 OBJETIVOS.....	156
3.1.1.1 Objetivo geral.....	156
3.1.1.1.1 Objetivos específicos	156
3.2 MATERIAIS E MÉTODOS	157
3.2.1 Reagentes e soluções.....	157
3.2.2 Instrumentação	159
3.2.3 Amostragem	161
3.2.4 Dispositivos D- μ -SPE e procedimento de extração	161

3.2.5 Otimização do procedimento D-μ-SPE	162
3.2.5.1 Otimização do tipo e da proporção do sorvente.....	162
3.2.5.2 Otimização das condições de extração e dessorção	163
3.2.5.3 Avaliação do volume da amostra.....	164
3.2.6 Protocolos de garantia e controle de qualidade	164
3.2.7 Validação do procedimento analítico	165
3.2.8 Aplicação do procedimento em amostras reais	166
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	169
3.3.1 Separação cromatográfica	169
3.3.2 Otimização das condições de extração	171
3.3.3 Avaliação do tipo de sorvente e otimização de sua proporção.....	172
3.3.5 Estudo do volume da amostra.....	188
3.3.5 Validação do procedimento analítico e comparação com outros procedimentos publicados na literatura	190
3.3.6 Aplicação em amostras reais	199
3.4 CONCLUSÃO	202
3.5 REFERÊNCIA	203
CAPÍTULO IV – DESENVOLVIMENTO DE UM DISPOSITIVO DE TRÊS VIAS PARA FILTRAÇÃO E MICROEXTRAÇÃO SÓLIDO-LÍQUIDO	208
4.1 INTRODUÇÃO	209
4.1.1 OBJETIVOS	210
4.1.1.1 Objetivo geral	210
4.1.1.1.1 Objetivos específicos	210
4.2 MATERIAIS E MÉTODOS	211
4.2.1 Reagentes e soluções	211
4.2.2 Instrumentação	211
4.2.3 Concepção Dispositivo de Três Vias Para Filtração e Microextração Sólido-Líquido	211
4.2.4 Testes preliminares com o protótipo do dispositivo impresso em PEEK.	215
4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	217
4.4 CONCLUSÕES	219
REFERÊNCIAS	220
CONSIDERAÇÕES FINAIS	222
SUGESTÃO DE TRABALHOS FUTUROS	222
PRODUÇÃO CIENTÍFICA DURANTE O PERÍODO DO DOUTORADO	223
Artigos publicados em periódicos	223

Artigos submetidos	223
Patente concendida	224
Prêmios e destaques	224
ANEXOS	225
ANEXO A	225
ANEXO B	226
ANEXO C	227
ANEXO D	228
ANEXO E	229
ANEXO F	230
ANEXO G	231
ANEXO H	232
ANEXO I	232
ANEXO J	233
ANEXO K	234
ANEXO L	235
ANEXO M	236

RESUMO

Uma quantidade significativa de trabalhos publicados recentemente tem mostrado um grande avanço na síntese e caracterização de sorventes seletivos para extração de poluentes em água. No entanto, ainda há uma escassez de trabalhos que reportam o desenvolvimento de dispositivos específicos focados na melhoria da eficiência da extração em fase micro-sólida dispersiva. Neste trabalho foram desenvolvidos procedimentos de extração/pré-concentração de poluentes orgânicos em água baseados na extração em fase micro-sólida dispersiva. Para isso, alguns dispositivos foram especialmente desenhados para etapa de extração e dessorção em microescala. No primeiro procedimento, os dispositivos foram empregados na extração/preconcentração de compostos policíclicos aromáticos em amostras de água doce e água do mar. O procedimento foi otimizado e as condições de extração foram: 100 mg de C₁₈, 32 min de extração e 20 min na etapa de micro-dessorção com 500 µL de *n*-hexano. O procedimento analítico foi validado e apresentou limites de detecção variando de 0,8 ng L⁻¹ (fenantreno) a 1,70 µg L⁻¹ (9,10-fenantrenequinona) e valores de recuperações relativas que variaram de 59,1% a 124% (1-metil-6-nitronaftaleno). Os fatores de pré-concentração variaram de 39 (1,4-naftoquinona) a 497 (flureno). O procedimento foi aplicado com sucesso na determinação de compostos policíclicos aromáticos em amostras de água doce e água do mar. As concentrações destes compostos nas amostras de água (doce e salgada) variaram de 7,94 ng L⁻¹ (naftaleno) a 38,4 ng L⁻¹ (fenantreno). Uma avaliação baseada no sistema de Ecoescala Analítica mostrou que o procedimento proposto apresentou um escore total de 92, sendo considerado ambientalmente amigável. No segundo procedimento, os dispositivos de extração e dessorção em microescala foram empregados na extração de resíduos de agrotóxicos multiclasse de amostras de água doce e água do mar. O procedimento foi otimizado empregando-se técnicas de planejamento de experimentos e as condições otimizadas foram: tempo de extração de 30 min, 6,74% de NaCl em 100 mL de amostra e um tempo de micro-dessorção de 24 min com 500 µL de acetato de etila. Os limites de detecção variaram de 0,51 ng L⁻¹ (4,4-DDE) a 22,4 ng L⁻¹ (dimetoato) e as recuperações relativas variaram de 74,2% (endrin) a 123% (molinato). Além disso, foram obtidos fatores de pré-concentração variando de 72,5 (dimetoato) a 200 (tebuconazol). O procedimento proposto foi aplicado em amostras de água doce e água do mar. Três agrotóxicos comumente aplicados no Brasil, tais como malation, dimetoato e lambda-cialotrina, foram detectados em concentrações que variam de <LD a 120 ng L⁻¹ (dimetoato). O terceiro procedimento consistiu no desenvolvimento de um Dispositivo de Três Vias para Filtração e Microextração Sólido-Líquido obtido via impressão 3D. O protótipo do dispositivo foi avaliado por meio de testes preliminares em laboratório na extração de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em 100 mL de uma amostra de água. Os resultados mostraram que o dispositivo foi utilizado com sucesso nas etapas de extração e injeção no GC-MS. No entanto, os baixos fatores de pré-concentração obtidos para alguns HPAs evidenciaram a necessidade de ajustes adicionais no dispositivo.

Palavras-chave: Contaminantes orgânicos, Sistemas miniaturizados, Agrotóxicos, Compostos poliaromáticos, Sistemas aquáticos, Quimiometria.

ABSTRACT

A significant amount of recently published papers has been shown an expressive advance in the synthesis and characterization of new and selective sorbents. However, there is a scarcity of papers reporting the development of new customized devices for the improvement of dispersive micro-solid phase extraction technique. In this work, it was developed analytical procedures for extraction/preconcentration of organic pollutants in water samples based on dispersive micro-solid phase extraction technique. For this purpose, new and effective devices were designed to perform extraction and micro-desorption steps. In the first developed procedure, the devices were employed in the extraction/preconcentration of polycyclic aromatic hydrocarbons from fresh and marine waters. The experimental conditions were optimized and the extraction parameters were set as 100 mg of C₁₈, extraction by 32 min, and micro-desorption of 20 min with 500 µL of *n*-hexane. After validation, the analytical procedure provided limit of detection values ranging from 0.8 ng L⁻¹ (Phenanthrene) a 1.70 µg L⁻¹ (9,10-Phenanthrenequinone) and relative recoveries ranging from 59.1 % a 124 % (1-Methyl-6-Nitronaphthalene). The enrichment factor ranged from 39 (1,4-Naphthoquinone) to 400 (fluorene). The procedure was successfully applied in the determination of PACs in fresh and marine waters and their concentrations in the water samples ranged from 7.94 ng L⁻¹ (Naphthalene) to 38.4 ng L⁻¹ (Phenanthrene). An evaluation based on Analytical Ecoscale showed that the proposed procedure reached 92 % points, being considered an environmentally friendly procedure. In the second developed procedure, the extraction and microscale devices were employed in the extraction of pesticide residues from fresh and marine waters. The procedure was optimized through experimental design techniques and the optimal extraction conditions were: 30 min of extraction time, 6.74 % of NaCl added into 100 mL of the water sample, and 24 min of micro-desorption with 500 µL of ethyl acetate. The detection limits ranged from 0.51 ng L⁻¹ (4,4-DDE) a 22.4 ng L⁻¹ (dimethoate), and relative recoveries ranged from 74.2 % (endrin) to 123 % (molinate). In addition, it was obtained enrichment factor ranging from 72,5 (dimetoate) to 200 (tebuconazole). The analytical procedure was applied in the extraction of pesticide residues in fresh and marine waters. Pesticides such as malathion, dimethoate, and lambda-cyhalothrin, which are commonly applied in Brazil, were detected in concentrations ranging from <LD to 120 ng L⁻¹ (dimethoate). The third procedure consisted of the development of a Three Ways Device for Filtration and Solid-Liquid Microextraction. The prototype of a 3D imprinted device was assessed through preliminary experiments in the extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons using 100 mL of a real water sample. The results showed that the prototype was successfully employed in the extraction steps and injections into GC-MS. However, it was obtained low enrichment factors for some PAHs, evidencing the need for additional adjustments on the device.

Keywords: Organic contaminants, Miniaturized systems, Pesticides, Polyaromatic compounds, Aquatic systems, Chemometry.

INTRODUÇÃO GERAL

Os poluentes orgânicos persistentes (POPs) são substâncias químicas sintéticas caracterizadas pela sua elevada estabilidade e, portanto, de difícil degradação por via química (fotoquímica, reações de oxidação, dentre outras) ou biológica (biotransformação por bactérias, fungos ou leveduras) no meio ambiente (ALHARBI *et al.*, 2018). Assim, os POPs podem permanecer no ambiente por um longo período de tempo, e quando emitidos para atmosfera na fase gasosa ou sorvidos no material particulado atmosférico inalável, são capazes de viajar por longas distâncias, podendo alcançar diversas regiões em qualquer lugar do mundo (WU *et al.*, 2017). Os POPs são poluentes prioritários e incluem agrotóxicos (principalmente organoclorados), produtos químicos industriais e compostos policíclicos aromáticos (ALHARBI *et al.*, 2018; BAEK *et al.* 2011).

A poluição dos corpos d'água é sem dúvida uma das maiores preocupações da sociedade atual. Isso porque, a água, além de fundamental para manter a vida na Terra, é um recurso estratégico e indispensável para suprir as demandas por energia e alimentos (FAO, 2014). A contaminação devido a emissão de poluentes orgânicos persistentes é uma das principais fontes de poluição dos corpos d'água. Os eventos de contaminação ocorrem principalmente devido a derramamentos de combustíveis fósseis, descarte inadequado de efluentes, escoamento de áreas rurais e urbanas para rios e lagos, e em menor extensão, por processos de deposição atmosférica (HODSON *et al.*, 2020; NASIRI; AHMADZADEH; AMIRI, 2020).

Dentre os poluentes orgânicos mais emitidos para o ambiente aquático, destacam-se os compostos policíclicos aromáticos e os agrotóxicos. A depender de algumas propriedades físico-químicas destes poluentes como solubilidade em água ou pressão de vapor (ZENG *et al.*, 2018) a concentração de algumas substâncias contaminantes pode variar de poucos pg L^{-1} (picogramas por litro) até a faixa de $\mu\text{g L}^{-1}$ (microgramas por litro). Deste modo, a determinação dessas substâncias em níveis de traço e ultra traço de maneira confiável, simples, rápida e com pouca ou nenhuma geração de passivo ambiental torna-se cada vez mais necessária (ARMENTA *et al.*, 2019; GAŁUSZKA; MIGASZEWSKI; NAMIEŚNIK, 2013) e tem sido um dos grandes desafios da Química Analítica moderna.

Os métodos tradicionais de extração de poluentes orgânicos (emergentes e/ou persistentes) têm sido empregados durante várias décadas na extração destes compostos e apresentam reconhecida eficiência, sendo portanto, considerados métodos oficiais por vários órgãos governamentais. No entanto, com o estabelecimento dos conceitos da Química Verde, os métodos tradicionais foram caindo em desuso (principalmente devido ao seu elevado consumo de solventes orgânicos e/ou reagentes), dando espaço para novos procedimentos, com baixo consumo de reagentes, amostras, tempo e energia, além de se mostrarem muito mais seguros para o analista, em comparação com os métodos clássicos de preparo de amostras. Uma das vertentes mais promissoras destes novos procedimentos de preparo de amostras é o desenvolvimento de dispositivos miniaturizados focados na microextração de poluentes orgânicos.

Neste trabalho são utilizados procedimentos de extração em fase micro-sólida dispersiva desenvolvidos/adaptados para realizar extrações de poluentes orgânicos em microescala, ou seja, quantidades significativamente reduzidas de solventes orgânicos (microlitros) e sorventes (miligramas). O primeiro capítulo apresenta uma revisão da literatura sobre os dois grupos mais estudados poluentes orgânicos: os compostos policíclicos aromáticos e os agrotóxicos. Além disso, abrange os conceitos relacionados à extração em meio aquoso e os dispositivos desenvolvidos atualmente para a extração em fase micro-sólida dispersiva. O segundo capítulo apresenta o desenvolvimento de um novo procedimento de extração em fase micro-sólida dispersiva, utilizando um dispositivo especialmente desenhado para esta finalidade e outro adaptado para realizar a etapa de dessorção em microescala. O procedimento foi aplicado na determinação de compostos policíclicos aromáticos em amostras de água doce e água do mar. O terceiro capítulo descreve um procedimento de extração em fase micro-sólida dispersiva que foi desenvolvido para extração/preconcentração de resíduos de agrotóxicos em amostras de água doce e água do mar. Finalmente, no quarto capítulo, apresentamos uma proposta de um Dispositivo de Três Vias para Filtração e Microextração Sólido-Líquido obtido via impressão 3D utilizando poli(éter-cetona) (PEEK).

CAPÍTULO I – REVISÃO DA LITERATURA

1.1 POLUENTES ORGÂNICOS: CLASSIFICAÇÃO, PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS E OCORRÊNCIA EM CORPOS D'ÁGUA

Poluentes orgânicos são substâncias orgânicas que podem estar presentes no ar, solo ou nos corpos d'água e, que devido a sua concentração, causam danos a fauna, flora e oferecem risco à saúde e ao bem estar das pessoas (CETESB, 2021). Dois dos principais poluentes que tem sido motivo de muita preocupação, principalmente devido aos seus efeitos deletérios (elevada toxicidade, carcinogenicidade e mutagenicidade) são os agrotóxicos e os compostos policíclicos aromáticos.

1.1.1 Agrotóxicos

1.1.1.1 Comércio global e uso no Brasil

Em 2018, o mercado global de agrotóxicos movimentou mais de 37 bilhões de dólares (FAOSTAT, 2020). A Ásia, a América e a Europa são os maiores consumidores de agrotóxicos do mundo. O Brasil é o maior importador de agrotóxicos e um dos maiores consumidores em nível global. Os Estados Unidos da América superaram o Brasil em uso de inseticidas (65.771 t) e herbicidas (255.826 t). No entanto, o Brasil lidera em consumo de fungicidas (59.124 t) (FAOSTAT, 2020). Segundo dados do IBAMA, o glifosato lidera a lista de ingredientes ativos mais vendidos no Brasil em 2017, com 173.151 t, seguido do 2,4-D, com vendas superiores a 57 mil toneladas (IBAMA, 2019).

O grande consumo de agrotóxicos no Brasil é justificado por sua intensa atividade agrícola. O Brasil possui mais de 5 milhões de estabelecimentos agropecuários que ocupam mais de 350 milhões de hectares, os quais são distribuídos entre lavouras permanentes e temporárias, pastagens naturais e plantadas, matas naturais e plantadas (IBGE, 2017). Boa parte da produção agrícola nacional se deve às culturas em lavouras temporárias, tais como cultura de soja, cana, milho e algodão (CARNEIRO *et al.*, 2015). A soja é o principal produto agrícola e o

Brasil atualmente é o maior produtor mundial, produzindo mais de 124.845 milhões de toneladas na safra de 2019/2020 (EMBRAPA, 2020).

O Estado da Bahia (Nordeste do Brasil) é considerado o oitavo maior consumidor de agrotóxicos do país (61 mil t), ficando atrás dos estados de Goiás (96,9 mil t), Mato Grosso do Sul (110,9 mil t), Rio grande do Sul (126 mil t), Minas Gerais (182 mil t), Mato Grosso (197 mil t), Paraná (226,6 mil t) e São Paulo (365 mil t) (BRASIL, 2018). O consumo elevado de agrotóxicos é justificado pela intensa atividade agrícola do Estado. Em 2019 foram produzidas aproximadamente 69,0 t ha⁻¹ de cana-de-açúcar, 4,9 t ha⁻¹ de milho, 3,3 t ha⁻¹ e 1,2 t ha⁻¹ de café (IBGE, 2020). Além disso, vários tipos de outras culturas agrícolas são cultivados, como melancia, algodão, mandioca e cacau, aumentando significativamente o emprego de fungicidas, inseticidas e herbicidas. Nas lavouras de café, por exemplo, fungicidas triazólicos e estrobilurínicos e inseticidas organofosforados, como clorpirifós, têm sido amplamente utilizados. Por sua vez, nas plantações de melancia e mamão alguns triazóis (difenoconazol e tebuconazol) e piretróides como a azoxistrobina, também foram aplicados intensivamente (ANVISA, 2020).

1.1.1.2 Classificação e propriedades físico-químicas

Os agrotóxicos podem ser classificados de acordo com vários critérios (AKASHE, 2018; HASSAAN; NEMR, 2020). No entanto, os critérios que levam em consideração a toxicidade, o alvo/praga e o grupo químico são os mais comumente utilizados.

Em relação a toxicidade, a Organização Mundial da Saúde (WHO) classifica os agrotóxicos levando-se em consideração a sua toxicidade aguda, ou seja, o risco para humanos, animais ou plantas após uma única exposição ao agrotóxico em um curto intervalo de tempo (AKASHE, 2018; WHO, 2019). A Tabela 1.1 mostra a classificação dos agrotóxicos por grau de toxicidade segundo a WHO. Alguns agrotóxicos organofosforados como paration e organoclorados como dieldrin são extremamente tóxicos e requerem somente uma pequena dosagem para levar metade dos indivíduos expostos à morte. Em contrapartida, a cabertamina e a cicloprotrina requerem

dosagens de 100 a 1000 vezes maiores do que os organofosforados citados para provocar o mesmo efeito.

Tabela 1.1 – Classificação dos agrotóxicos de acordo com os critérios de toxicidade da WHO.

Classe	Classificação	LD ₅₀ para ratos (mg/kg massa corporal)		Exemplo IA ^a
		Oral	Dérmica	
Ia	Extremamente perigoso	< 5	< 50	paration, dieldrin,
Ib	Altamente perigoso	5 - 50	5 - 200	Aldrin, diclorvos
II	Moderadamente perigoso	50 - 2000	200 - 2000	DDT, clordano
III	Levemente perigoso	> 2000	> 2000	malation
U	Improvável de apresentar risco	5000 ou maior		Cabertamina, cicloprotrina

LD₅₀: dose suficiente para matar 50 % da população de ratos usados no ensaio. ^aIngrediente ativo. Fonte: Akashe (2018) e WHO (2019).

A classificação em função do alvo/praga é mais conhecida do que a classificação toxicológica. Os mais comumente empregados no Brasil são inseticidas, herbicidas e fungicidas, os quais são empregados no controle de insetos, plantas invasoras (e suas sementes) e fungos, respectivamente.

A classificação por grupo químico é a mais difundida e apropriada. Ela descreve o ingrediente ativo da substância empregada como agrotóxico. Dependendo da sua estrutura química, os agrotóxicos são classificados dentro de quatro categorias principais: organoclorados, organofosforados, piretróides e piretrinas. No entanto, outras categorias de grupos químicos são ou foram bastante empregadas na agricultura, como estrobilurinas, carbamatos, triazóis, imidazoles e triazinas (AKASHE, 2018; JØRGEN STENERSEN, 2004). Nesta revisão, será dada uma ênfase nos principais grupos investigados neste trabalho.

1.1.1.2.1 Organoclorados

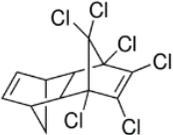
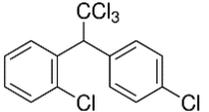
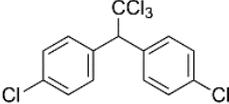
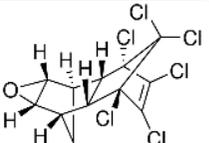
Os agrotóxicos do grupo químico dos organoclorados são moléculas orgânicas contendo ao menos um anel em sua estrutura e vários átomos de cloro como substituintes. Esta classe compreende vários compostos, incluindo DDT e compostos

análogos, tais como: isômeros do hexaclorociclohexano (*alfa*-HCH, *beta*-HCH, *gamma*-HCH e *delta*-HCH), heptacloro, aldrin, heptacloro-epóxido, endosulfan, endrin, dieldrin, metoxicloro, dentre outros (SPARLING, 2016). Estes compostos atuam no sistema nervoso dos insetos, mais especificamente nos canais de sódio localizados nos axônios dos neurônios, afetando gravemente a passagem de pulsos elétricos. Deste modo, os insetos ou animais expostos a estes compostos apresentam impulsos elétricos descontrolados e repetitivos, resultando em movimentos involuntários, convulsão, perda do controle muscular e falha no sistema respiratório, levando a asfixia e, conseqüentemente, a morte (JØRGEN STENERSEN, 2004; SPARLING, 2016).

A grande maioria dos agrotóxicos organoclorados possui baixa solubilidade em água e são lipofílicos (elevado coeficiente de partição $\log K_{ow}$), solubilizando-se em solventes orgânicos apolares e em tecidos adiposos de organismos vivos. De modo geral, agrotóxicos com $\log K_{ow} > 3,5$ são considerados lipofílicos e hidrofóbicos (Tabela 1.2). Por essa razão, tendem a se acumular no tecido de animais e de seres humanos. Além disso, são compostos orgânicos persistentes e podem permanecer no ambiente por vários dias ou anos (SPARLING, 2016). Contudo, é conhecido que alguns microrganismos podem auxiliar na degradação dos agrotóxicos organoclorados (BANDALA *et al.*, 2006), além de outros fatores como pH e radiação UV (ABRAHAM; SILAMBARASAN; LOGESWARI, 2014; SPARLING, 2016). Os agrotóxicos organoclorados possuem uma ampla faixa de pressão de vapor, mas a grande maioria destes compostos é semivolátil e apresenta pressão de vapor variando entre 10^{-3} a 10^{-5} Pa (IUPAC, 2021).

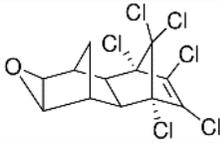
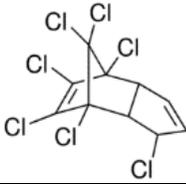
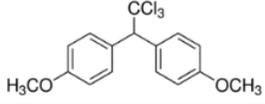
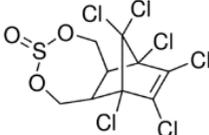
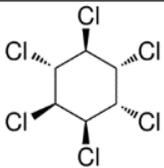
Em relação a estrutura química, os organoclorados podem ser classificados em cinco principais categorias: i) DDT e seus metabólitos (DDE e DDD), ii) hexaclorociclohexano e seus isômeros, III) ciclodienos, incluindo aldrin, dieldrin, endrin, heptacloro e endosulfan, IV) toxafeno e V) mirex e clordecona (SPARLING, 2016). Muitos destes compostos são representados por diferentes estereoisômeros, incluindo enantiômeros e diastereoisômeros. Um exemplo é o DDT, que possui um isômero chamado *o',p'*-DDT que é quiral, ou seja, possui um centro estereogênico (HOEKSTRA *et al.*, 2001). Em contrapartida, o *alfa* e o *beta*-endosulfan são diastereoisômeros (SPARLING, 2016).

Tabela 1.2 – Propriedades físicas e químicas de alguns agrotóxicos organoclorados investigados neste estudo.

Agrotóxico	EQ	SA (mg L ⁻¹)	CH (Pa m ³ mol ⁻¹)	Pv (mPa)	Log K _{ow}	Meia-vida*
Aldrin		0,027	17,2	8,6	6,5	365 dias/muito persistente
<i>o',p'</i> -DDT		NI	NI	NI	NI	6200 dias/muito persistente
<i>p',p'</i> -DDT		0,025	8,43 x 10 ⁻¹	2,5 x 10 ⁻²	6,91	6200 dias/muito persistente
Dieldrin		0,14	6,50 x 10 ⁻²	2,4 x 10 ⁻²	3,7	1400 dias/muito persistente

SA: solubilidade em água. CH: constante de Henry. Pv: pressão de vapor. Log K_{ow}: constante de partição octanol/água. *Meia vida, degradação no solo/persistência. Fonte: IUPAC (2020); Merck (2020); USEPA (2021); Bandowe e Meusel (2017); Chemspider (2021).

Tabela 1.2 – Propriedades físicas e químicas de alguns agrotóxicos organoclorados investigados neste estudo (conclusão).

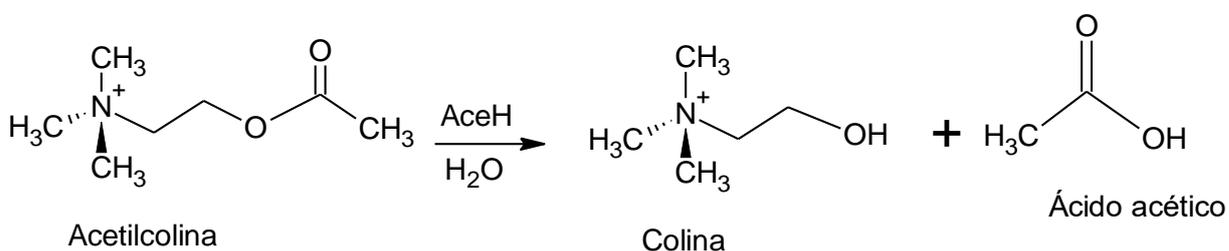
Agrotóxico	EQ	SA (mg L ⁻¹)	CH (Pa m ³ mol ⁻¹)	Pv (mPa)	Log K _{ow}	Meia-vida*
Endrin		0,24	1,48 x 10 ⁻¹	2,0 x 10 ⁻⁷	3,2	4300 dias/muito persistente
Heptacloro		0,056	3,53 x 10 ²	53	5,44	250 dias/persistente
Metoxicloro		0,1	2,00 x 10 ⁻²	8,0 x 10 ⁻²	5,83	120 dias/persistente
Endosulfan		0,32	1,48	0,83	4,75	86 dias/moderadamente persistente
HCH (lindano)		8,52	1,48 x 10 ⁻⁶	4,4	3,5	Não informado

HCH: Hexaclorociclohexano. AS: solubilidade em água. CH: constante de Henry. Pv: pressão de vapor. Log K_{ow}: constante de partição octanol/água. *Meia vida, degradação no solo/persistência. Fonte: IUPAC (2020); Merck (2020); USEPA (2021); Bandowe e Meusel (2017); Chemspider (2021).

1.1.1.2.2 Organofosforados

Os agrotóxicos organofosforados são substâncias químicas altamente tóxicas que são intensivamente utilizadas no manejo de pragas. Além disso, tem um histórico de uso como armamento de destruição em massa, na forma de agentes nervosos como o gás sarin, tabun, soman e VX (IYENGAR; PANDE, 2016; WYMORE *et al.*, 2014). Estes compostos atuam inibindo a ação da enzima acetilcolinesterase (AChE). Essa enzima catalisa a hidrólise da acetilcolina (ACh), formando colina e ácido acético como produtos inativos (Figura 1.1). A ACh é um importante neurotransmissor liberado na fenda sináptica de células nervosas, ou seja, no espaço entre a junção da membrana pré-sináptica (que libera o neurotransmissor) e a membrana pós-sináptica (a membrana vizinha). Com a ausência da AChE, um excesso de ACh se acumula na fenda sináptica e, como consequência, há uma hiperestimulação dos receptores de ACh presentes na membrana pós-sináptica. Como resultado, o indivíduo pode apresentar efeitos colaterais muscarínicos (bradicardia, broncoconstrição, hipotensão e diarreia) e nicotínicos (ansiedade, cefaleia, convulsão, ataxia, depressão da respiração e circulação, tremor e morte devido a paralisação do sistema respiratório (BIGLEY; RAUSHEL, 2013; FUKUTO, 1990; IYENGAR; PANDE, 2016; JØRGEN STENERSEN, 2004).

Figura 1.1 – Reação de hidrólise da acetilcolina na presença da enzima acetilcolinesterase.



Fonte: Fukuto (1990).

Os organofosforados podem ser classificados em fosfotriesteres, tiofosfatos e fosforotiolatos. Os fosfotriesteres apresentam em sua estrutura química um grupo fosfato ligado em éster a três átomos de oxigênio (ex. paraxon). Nos grupo dos tiofosfatos, um átomo de oxigênio do grupo P=O é substituído por um átomo de

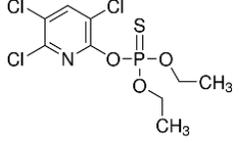
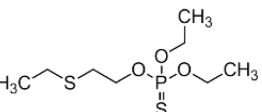
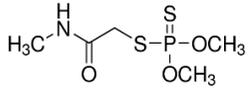
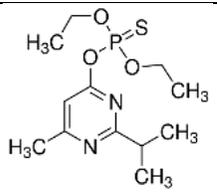
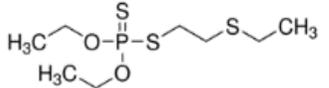
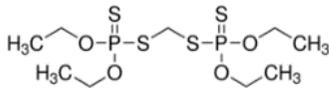
enxofre (P=S), como pode ser verificado nas estruturas do clorpirifós, metil-paration e diazinon (Tabela 1.3). Os fosforotiolatos contém um grupo P=O ou P=S e um ou mais oxigênios do grupo éster são substituídos por enxofre, como pode ser observado nas estruturas do malation, disulfoton e etion (IYENGAR; PANDE, 2016; WYMORE *et al.*, 2014) (Tabela 1.3).

Levando-se em consideração que a estrutura química de alguns organofosforados apresenta grupos funcionais polares e átomos com pares de elétrons não-ligantes, é esperado que alguns deles (principalmente dimetoato, demeton, malation, paraxon e diazinon) apresentem uma maior solubilidade em água do que a observada para os organoclorados. Isso porque, a estrutura de alguns destes compostos permite interações intermoleculares com a água por meio de ligações de hidrogênio. Os dados da Tabela 1.3 mostram que a solubilidade em água de alguns agrotóxicos organofosforados varia de 0,25 mg L⁻¹ (etion) a 25900 mg L⁻¹ (dimetoato), a qual é superior do que a maioria dos organoclorados da Tabela 1.2. Isso reflete nos valores dos coeficientes de partição destes compostos, os quais são inferiores aos dos organoclorados. Deste modo, os agrotóxicos organofosforados são menos hidrofóbicos e, alguns deles, tendem a solubilizar-se melhor em meio aquoso do que em lipídios.

Em relação à pressão de vapor, os organofosforados apresentam pressão de vapor entre moderada e elevada, variando de 0,2 mPa (etion, metil-paration) a 14 mPa (sulfotep) e portanto, apresentando partição entre a água ou solo e a atmosfera. Ao contrário dos organoclorados, estes compostos apresentam uma persistência que varia de baixa a moderada, tendo um tempo de meia-vida no solo que varia de 1 a 90 dias (Tabela 1.3).

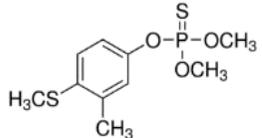
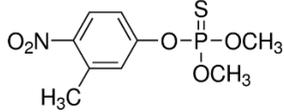
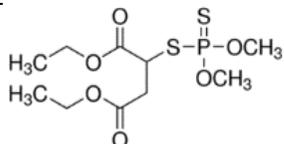
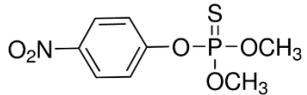
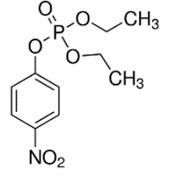
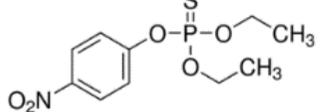
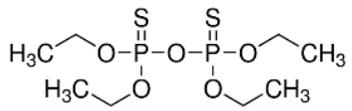
Tanto os agrotóxicos organoclorados quanto os organofosforados foram aplicados diversos lugares do mundo por várias décadas. No entanto, fatores como alta toxicidade, bioacumulação, persistência no ambiente e a resistência das pragas ao princípio ativo fizeram com que muitos deles se tornassem obsoletos e até mesmo banidos. Em compensação, novos compostos foram estudados e sintetizados visando a gradativa substituição destes agrotóxicos. Dentre eles, destacam-se os grupos dos piretróides, carbamatos, triazinas, triazóis, imidazóis e estrobilurinas.

Tabela 1.3 – Propriedades físico-químicas de alguns agrotóxicos organofosforados em desuso ou que são atualmente empregados no Brasil (continua).

Agrotóxico	Estrutura química	Classificação	SA (mg L ⁻¹)	CH (Pa m ³ mol ⁻¹)	Pv (mPa)	Log Kow	Meia-vida*
Clorpirifós ^a		Tiofosfato	1,05	0,478	1,43	4,7	27,6 dias/não-persistente
Demeton-O ^b		Tiofosfato	666	0,387	3,26	3,21	Not informed
Dimetoato ^{a,c}		Tiofosfato	25900	1,42 X 10 ⁻⁶	0,247	0,75	2,5 dias/não-persistente
Diazinon ^{a,c}		Tiofosfato	60,0	6,09 x 10 ⁻²	11,97	1,14	18,4 dias/não-persistente
Disulfoton ^{a,c}		Fosforotiolato	25,0	16	7,2	3,95	30 dias/moderadamente persistente
Etion ^b		Fosforotiolato	0,25	3,85 x 10 ⁻²	0,2	5,07	90 dias/moderadamente persistente

SA: solubilidade em água. CH: constante de Henry. Pv: pressão de vapor. Log Kow: constante de partição octanol/água. *Meia vida, degradação no solo/persistência. ^aAutorizado no Brasil e na União Europeia. ^bProibido no Brasil e na União Europeia. ^{a,c}Autorizado no Brasil mas proibido na União Europeia. Fonte: IUPAC (2020); Merck (2020); USEPA (2021); Bandowe e Meusel (2017); Chemspider (2021).

Tabela 1.3 – Propriedades físico-químicas de alguns agrotóxicos organofosforados descontinuados ou que são atualmente empregados no Brasil (conclusão).

Agrotóxico	Estrutura química	Classificação	SA (mg L ⁻¹)	CH (Pa m ³ mol ⁻¹)	Pv (mPa)	Log Kow	Meia-vida*
Fention ^b		Tiofosfato	4,20	2,40 x 10 ⁻²	0,37	4,84	22 dias/não-persistente
Fenitroton ^{a,c}		Tiofosfato	19,0	9,86 x 10 ⁻³	0,676	3,32	2,7 dias/não-persistente
Malation ^a		Fosforotiolato	148	1,00 x 10 ⁻³	3,1	2,75	1 dia/não-persistente
Metil-paration ^b		Tiofosfato	55	8,57x10 ⁻³	0,2	3,00	12 dias/não-persistente
Paraxon ^b		Fosfotriester	3,64	2,92	NI	1,98	4 dias/não-persistente
Paration ^b		Tiofosfato	12,4	3,02 x 10 ⁻²	0,89	3,83	49 dias/moderadamente persistente
Sulfotep ^b		Tiofosfato	10	0,450	14	3,99	28 dias/não-persistente

HCH: Hexaclorociclohexano. NI: não informado. SA: solubilidade em água. CH: constante de Henry. Pv: pressão de vapor. Log Kow: constante de partição octanol/água. *Meia vida, degradação no solo/persistência. ^aAutorizado no Brasil e na União Europeia. ^bProibido no Brasil e na União Europeia. ^{a,c}Autorizado no Brasil mas proibido na União Europeia. Fonte: IUPAC (2020); Merck (2020); USEPA (2021); Bandowe e Meusel (2017); Chemspider (2021).

1.1.1.2.3 Grupo químico dos piretroides, carbamatos, triazinas, triazóis e estrobirulinas

Os piretroides formam um grupo de substâncias que podem ocorrer naturalmente ou serem obtidas por meio de síntese orgânica. Os piretróides naturais são obtidos do piretro, um substância extraída das flores de certas espécies do crisântemo (JØRGEN STENERSEN, 2004). Os piretróides sintéticos são compostos similares aos obtidos naturalmente, mas com algumas modificações estruturais que permitem melhorar sua estabilidade frente a fotodegradação, reduzir sua toxicidade em relação aos peixes e mamíferos e aumentar sua efetividade como inseticida. Estes compostos podem ser divididos em dois grupos: i) aqueles utilizados exclusivamente na agricultura (toxicidade moderada) e ii) aqueles de baixa toxicidade, voltados para o ambiente urbano (combate a mosquitos, pequenos insetos e artrópodes) (TANG, W. *et al.*, 2018). Este tipo de substância atua prolongando a abertura dos canais de sódio nas membranas axionais, retardando a repolarização no sistema nervoso central e periférico (PARENTE *et al.*, 2018). Um dos piretróides sintéticos mais conhecidos é a permetrina, a qual possui maior estabilidade e efetividade como inseticida do que os piretróides naturais (JØRGEN STENERSEN, 2004; TANG, W. *et al.*, 2018). Outros exemplos de piretróides comumente empregados são cipermetrina, deltametrina, fenpropatrina, fenvalerato, bifentrina, lambda-cialotrina e ciflutrina (TANG, W. *et al.*, 2018).

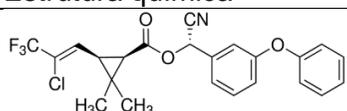
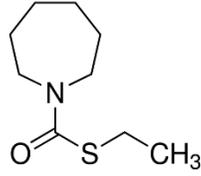
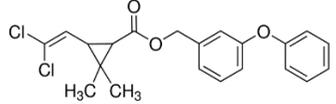
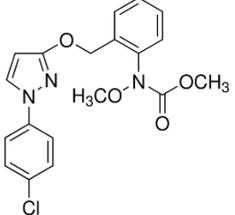
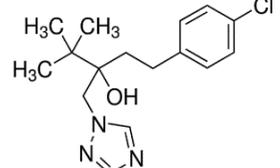
Todos os piretróides são quirais, possuindo dois ou três estereocentros. Além disso, são compostos lipofílicos, apresentando log Kow variando de 5,5 a 6,6 (Tabela 1.4). Essa elevada lipofilicidade dificulta a sua remoção quando é absorvido pelo organismo (TANG, W. *et al.*, 2018). Estes compostos também são muito poucos solúveis em água (solubilidade $< 0,2 \text{ mg L}^{-1}$) (Tabela 4). Possuem pressão de vapor que varia de moderada a baixa e podem chegar à atmosfera sorvidos no material particulado atmosférico (COSCOLLÀ; YUSÀ, 2016).

Tabela 1.4 – Propriedades físico-químicas de alguns agrotóxicos do grupo dos piretróides, carbamatos, triazinas, triazóis e estrobirulinas, descontinuados ou que são atualmente empregados no Brasil (continua).

Agrotóxico	Estrutura química	Grupo químico	SA (mg L ⁻¹)	CH (Pa m ³ mol ⁻¹)	Pv (mPa)	Log Kow
Atrazina		Triazina	35	1,50 X 10 ⁻⁴	0,039	2,7
Azoxistrobina		Estrobirulina	6,7	7,40 x 10 ⁻⁹	1,10 x 10 ⁻⁷	2,5
Bifentrina		Piretróide	0,001	7,74 x 10 ⁻⁵	1,78 x 10 ⁻²	6,6
Carbofurano		Carbamato	322	5,0 X 10 ⁻⁵	0,08	1,8
Difenoconazol		Triazol	15	9,0 x 10 ⁻⁷	3,33 x 10 ⁻⁵	4,36
Imazalil		Imidazol	184	1,08x10 ⁻⁴	0,158	2,56

SA: solubilidade em água. CH: constante de Henry. Pv: pressão de vapor. Log Kow: constante de partição octanol/água. *Meia vida, degradação no solo/persistência. Fonte: IUPAC (2020); Merck (2020); USEPA (2021); Bandowe e Meusel (2017); Chemspider (2021).

Tabela 1.4 – Propriedades físico-químicas de alguns agrotóxicos do grupo dos piretroides, carbamatos, triazinas, triazóis e estrobirulinas, descontinuados ou que são atualmente empregados no Brasil (conclusão).

Agrotóxico	Estrutura química	Grupo químico	SA (mg L ⁻¹)	CH (Pa m ³ mol ⁻¹)	Pv (mPa)	Log Kow
Lambda-cialotrina		Piretróide	0,005	2,00 x 10 ⁻²	2,0 x 10 ⁻⁴	5,50
Molinato		Tiocarbamato	1100	0,687	500	2,86
Permetrina		Piretróide	0,2	1,89 x 10 ⁻¹	2,0 x 10 ⁻³	6,10
Piraclostrobina		Estrobirulina	1,9	5,31x10 ⁻⁶	2,6 x 10 ⁻⁵	3,99
Tebuconazol		Triazol	36	1,00 x 10 ⁻⁵	1,30 x 10 ⁻³	3,70

SA: solubilidade em água. CH: constante de Henry. Pv: pressão de vapor. Log Kow: constante de partição octanol/água. *Meia vida, degradação no solo/persistência. Fonte: IUPAC (2020); Merck (2020); USEPA (2021); Bandowe e Meusel (2017); Chemspider (2021).

Os agrotóxicos do grupo dos carbamatos são ésteres do ácido carbâmico e são comumente empregados como inseticidas (GUPTA, 2014). São classificados em três subgrupos: carbamatos, tiocarbamatos e ditiocarbamatos (Tabela 1.4). Exemplos de inseticidas do grupo dos carbamatos são: bendiocarb, carbaril, carbofurano, metomil, oxamil e propoxur. Os tiocarbamatos incluem ingredientes ativos tais como: butilato, cicloato, dialato, molinato e trialato, enquanto que o fumigante metam-sódio pertence ao grupo dos ditiocarbamatos (GUPTA, 2014). Os carbamatos atuam como inibidores da AChE através de um mecanismo similar ao dos agrotóxicos organofosforados. Baseados em sua dosagem aguda, alguns carbamatos como aldicarb, carbofurano, oxamil, metomil e muitos outros são extremamente tóxicos para mamíferos e aves (GUPTA, 2014; JØRGEN STENERSEN, 2004).

Em relação às propriedades físico-químicas, os carbamatos são compostos pouco solúveis em água. No entanto, são mais solúveis do que os agrotóxicos organoclorados, organofosforados (exceto dimetoato) e piretróides (Tabela 1.2, Tabela 1.3 e Tabela 1.4, respectivamente). Isso se deve a presença de grupos funcionais polares que permitem ligações de hidrogênio com as moléculas de água. Apresentam também baixa lipofilicidade ($\log K_{ow} < 2,9$) e pressão de vapor moderada, o que permite que esses compostos estejam presentes na atmosfera tanto na fase gasosa quanto sorvidos no material particulado atmosférico.

Os agrotóxicos do grupo químico dos triazóis, imidazol e das estrobirulinas constituem o chamado grupo de fungicidas sistêmicos. Este tipo de fungicida é altamente seletivo e foram desenvolvidos para serem completamente assimilados pela planta e inibir infecções provocadas por fungos sem matar o hospedeiro (CORREIA *et al.*, 2016). O mecanismo antifúngico dos triazóis baseia-se na sua habilidade de inibir a enzima CYP51 (lanosterol 14-demetilase), que é uma enzima chave na biossíntese utilizada pelos fungos (CORREIA *et al.*, 2016). Alguns exemplos de agrotóxicos deste grupo são o tebuconazol e o difenoconazol. As estrobirulinas, por sua vez, são substâncias isoladas principalmente dos fungos *Strobilurus tenacellus*. Os principais mecanismos de atuação destes fungicidas consistem na redução da quantidade de nutrientes para os fungos patógenos, inibição dos processos de transferência de elétrons na mitocôndria e ruptura do metabolismo dos fungos (CORREIA *et al.*, 2016; JØRGEN STENERSEN, 2004). Fungicidas como a azoxistrobina, piraclostrobin e trifloxistrobina são alguns dos mais empregados nas

lavouras. O imazalil é um outro exemplo de fungicida sistêmico amplamente empregado no controle de uma ampla variedade de fungos, incluindo os fungos do gênero *Tilletia* e *Helminthosporium spp.* Este agrotóxico atua inibindo a biossíntese do ergosterol nos fungos, um esteroide que é essencial à construção da parede celular de muitos destes organismos (GOULART, 1995; MREMA *et al.*, 2013).

No que se refere às propriedades físicas e químicas, a maioria destes fungicidas tem caráter hidrofóbico e, portanto, são pouco solúveis em água. No entanto, possuem solubilidade em água maior do que os agrotóxicos organoclorados. Apresentam pressão de vapor moderada a baixa e podem alcançar a atmosfera sorvidos no material particulado atmosférico.

Em relação ao uso de herbicidas, a atrazina se destaca com um dos herbicidas mais empregados no Brasil (IBAMA, 2019). Este agrotóxico sintético pertence ao grupo das triazinas e atua inibindo a fotossíntese em plantas susceptíveis. Devido a isso, é muito empregada no combate a ervas daninhas em culturas de milho, cana-de-açúcar e sorgo (ANVISA, 2020; CHEREMISINOFF; ROSENFELD, 2011). A atrazina possui baixa lipofilicidade ($\log Kow < 2,71$) e é moderadamente solúvel em água (35 mg L^{-1}). Possui pressão de vapor moderada ($3,9 \times 10^{-5} \text{ Pa}$) e tem potencial para volatilizar e alcançar a atmosfera (Tabela 1.4).

1.1.1.3 Dinâmica e ocorrência de agrotóxicos nos corpos d'água

Os agrotóxicos podem atingir o ambiente aquático de várias maneiras e sua mobilidade de um compartimento ambiental para outro, bem como sua persistência, dependerá de alguns fatores, tais como: propriedades físico-químicas, formulação, características do solo, condições meteorológicas e a forma de aplicação (CLIMENT *et al.*, 2019; NAVARRO; VELA; NAVARRO, 2007; PEREIRA *et al.*, 2016). As muitas fontes de descargas de agrotóxicos podem vir de deposição atmosférica, deriva, escoamento de água de fazendas, lixiviação do solo ou até mesmo de contaminação por lavagem inadequada de recipientes e equipamentos agrícolas (LÓPEZ-PACHECO *et al.*, 2019; MONTIEL-LEÓN *et al.*, 2019; NAVARRO; VELA; NAVARRO, 2007; TANKIEWICZ; FENIK; BIZIUK, 2010; ZUBROD *et al.*, 2019). Embora

agrotóxicos mais lipofílicos (elevado $\log K_{ow}$) possam ser sorvidos em partículas do solo ou material particulado em suspensão, reduzindo sua concentração final na água, aqueles com características mais hidrofílicas não são completamente retidos pelas partículas do solo e, portanto, tem potencial para atingir o ambiente aquático (TANG, W. *et al.*, 2018). Por exemplo, o herbicida atrazina foi encontrado em concentrações que variam de <LOQ a $2,89 \mu\text{g L}^{-1}$ em amostras de águas superficiais coletadas em três bacias hidrográficas do Estado do Pará (Brasil) durante duas campanhas de amostragem (DELLA-FLORA *et al.*, 2019). Da mesma forma, Montiel-León *et al.* (2019) encontraram atrazina em concentrações que variam de 4 ng L^{-1} a 666 ng L^{-1} em amostras de água de superfície coletadas no rio St. Lawrence (Canadá). Em outro estudo (CLIMENT *et al.*, 2019), realizado na bacia do rio Cachapoal (Chile), foi investigada a concentração de 22 agrotóxicos e 12 produtos de degradação em amostras de águas superficiais. Entre os agrotóxicos detectados, foram encontradas concentrações de tebuconazol, azoxistrobina, diazinon, clorpirifós e atrazina variando de <LOQ a 318 ng L^{-1} (diazinon).

1.1.2 Compostos Policíclicos Aromáticos

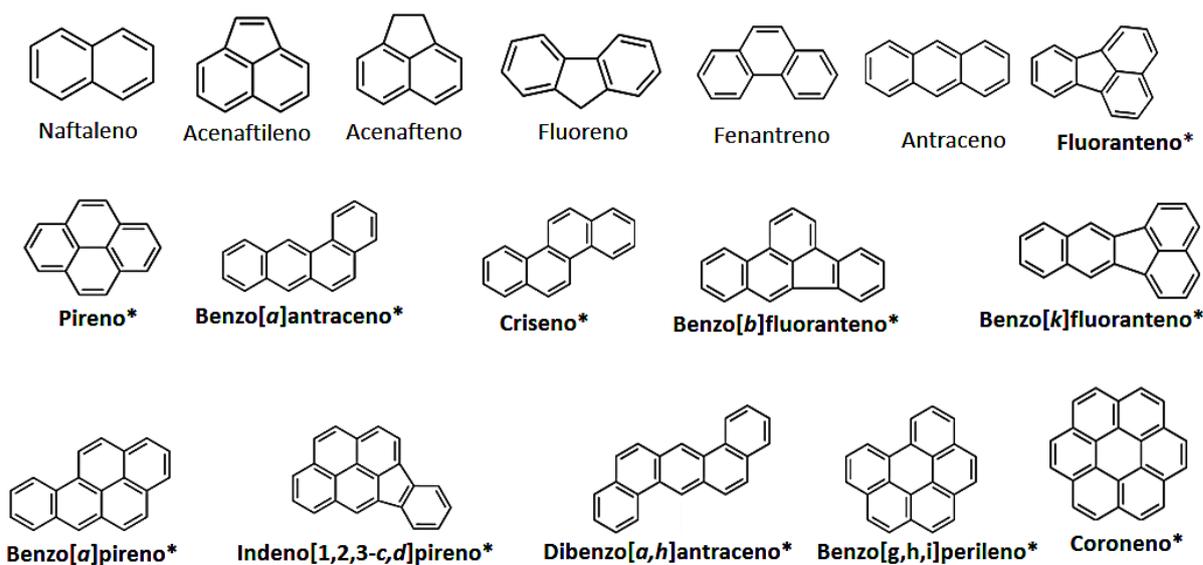
Os compostos policíclicos aromáticos (CPAs) são uma ampla classe de compostos orgânicos que incluem os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) e seus derivados alquilados (*Alquil-HPAs*), nitrados (*nitro-HPAs*), oxigenados (*oxi-HPAs*) e também os compostos aromáticos heterocíclicos contendo um ou mais átomos de nitrogênio, enxofre ou oxigênio dentro do anel aromático (ACHTEN; ANDERSSON, 2015). Estes compostos são encontrados naturalmente em fontes petrogênicas como petróleo e carvão mineral, mas podem ser lançados ao ambiente por meio de processos pirogênicos como queima incompleta de combustíveis fósseis ou biomassa (AHAD *et al.*, 2020). No presente estudo, foram investigadas a classe dos HPAs e seus derivados *nitro-HPAs* e *oxi-HPAs*.

1.1.2.1 HPAs

Os HPAs possuem em sua estrutura química dois ou mais anéis benzênicos condensados em um arranjo linear, angular ou em *cluster* (ACHTEN; ANDERSSON, 2015; MARCÉ; BORRULL, 2000; STOUT *et al.*, 2015). Alguns autores, no entanto, afirmam que compostos como o naftaleno (que possui apenas dois anéis aromáticos) não são HPAs de fato e devem ser classificados como hidrocarbonetos bicíclicos aromáticos (HUSSEIN; ABDEL-SHAFY; MANSOUR, 2016).

A classe dos HPAs pode ser dividida em dois grupos: i) HPAs de baixa massa molar e ii) HPAs de elevada massa molar. Os HPAs de baixa massa molar são formados por compostos com menos de quatro anéis (naftaleno, acenaftileno, acenafteno, fluoreno, fenantreno e antraceno) e os HPAs de elevada massa molar, os quais são formados por compostos com mais de quatro anéis (fluoranteno, pireno, benzo[*a*]antraceno, criseno, benzo[*b*]fluoranteno, benzo[*k*]fluoranteno, benzo[*a*]pireno, indeno[1,2,3-*c,d*]pireno, dibenzo[*a,h*]antraceno, benzo[*g,h,i*]perileno, e coroneno (Figura 1.2) (MURRAY; PENNING, 2018).

Figura 1.2 – Estruturas dos HPAs prioritários da USEPA. *HPAs de elevada massa molar.



Fonte: Merck (2020).

De modo geral, a maioria dos HPAs apresentam elevados pontos de fusão e ebulição (são sólidos), baixa pressão de vapor e baixa solubilidade em água. Contudo, é importante destacar que algumas propriedades físico-químicas variam de acordo com o número de anéis em sua estrutura química (ACHTEN; ANDERSSON, 2015; HUSSEIN; ABDEL-SHAFY; MANSOUR, 2016). Por exemplo, os pontos de fusão aumentam com o aumento do número de anéis: 200 °C – 300 °C (HPAs de 2 anéis), 300 °C – 400 °C (HPAs de 3 anéis), 300 °C – 450 °C (HPAs de 4 anéis), 350 °C – 450 °C (HPAs de 5 anéis) e 500 °C a 600 °C (HPAs de 6 a 10 anéis). A pressão de vapor diminui continuamente de $1,00 \times 10^{-2}$ Pa até $1,00 \times 10^{-11}$ Pa com o aumento no número de anéis e a solubilidade em água diminui de algumas dezenas até cerca de $1,00 \times 10^{-4}$ mg L⁻¹ (Tabela 1.5).

Tabela 1.5– Propriedades físico-químicas de alguns CPAs investigados neste estudo (continua).

HPAs	Massa molar (g mol ⁻¹)	Pressão de vapor (Pa, 25 °C)	Solubilidade em água (mg L ⁻¹ , 25°C)	Constante de Henry (Pa m ³ mol ⁻¹)	Log <i>k</i> _{ow}	Log <i>k</i> _{oc}
Naftaleno	128,17	11,30	31	4,859	3,30	2,96
Acenaftileno	152,20	8,90 x 10 ⁻¹	16,1	11,55	3,94	3,78
Acenafteno	154,21	2,87 x 10 ⁻¹	3,9	10,47	3,92	3,59
Flureno	166,22	8,00 x 10 ⁻²	1,69	5,462	4,18	3,70
Fenantreno	178,23	1,61 x 10 ⁻²	1,15	1,516	4,46	4,35
Antraceno	178,23	8,71 x 10 ⁻³	4,3 x 10 ⁻²	7,47 x 10 ⁻²	4,45	4,31
Fluoranteno	202,26	1,23 x 10 ⁻³	0,26	6,51 x 10 ⁻¹	5,16	4,80
Pireno	202,25	6,00 x 10 ⁻⁴	0,135	4,13 x 10 ⁻²	4,88	4,90
Benzo[a]antraceno	228,29	2,80 x 10 ⁻⁵	0,01	2,85 x 10 ⁻¹	5,76	5,36
Criseno	228,29	8,31 x 10 ⁻⁷	2,00 x 10 ⁻³	1,80 x 10 ⁻³	5,81	5,04
Benzo[b]fluoranteno	252,32	1,73 x 10 ⁻³	2,0 x 10 ⁻³	2,85 x 10 ⁻²	5,78	5,91
Benzo[a]pireno	252,32	7,32 x 10 ⁻⁷	1,62 x 10 ⁻³	3,18 x 10 ⁻³	6,13	5,95
Indeno[1,2,3-cd]pireno	276,34	4,34 x 10 ⁻⁶	1,90 x 10 ⁻⁴	3,50 x 10 ⁻¹	6,38	5,78
Dibenzo[a,h]antraceno	278,35	1,27 x 10 ⁻⁷	3,40 x 10 ⁻³	1,56 x 10 ⁻⁴	6,75	6,41
Benzo[ghi]perileno	276,34	1,33 x 10 ⁻⁸	2,60 x 10 ⁻⁴	1,29 x 10 ⁻²	6,63	6,43
Coroneno	300,36	2,89 x 10 ⁻¹⁰	1,40 x 10 ⁻⁴	6,52 x 10 ⁻³	7,64	6,86

Fonte: USEPA (2021); Bandowe e Meusel (2017); Chemspider (2021). Log *k*_{ow}: coeficiente de partição octanol-água; Log *k*_{oc}: coeficiente de partição carbono-água.

Tabela 1.5 – Propriedades físico-químicas de alguns CPAs investigados neste estudo (conclusão).

	Massa molar	Pressão de vapor	Solubilidade em água	Constante Henry	Log k_{ow}	Log K_{oc}
Quinonas	(g mol ⁻¹)	(Pa, 25 °C)	(mg L ⁻¹ , 25°C)	(Pa m ³ mol ⁻¹)		
9,10-Antraquinona	208,22	1,54 x 10 ⁻⁵	1,35	2,71 x 10 ⁻⁴	3,39	2,27
1,4-Naftoquinona	158,15	7,40 x 10 ^{-2b} ; 1,80 x 10 ^{-4c}	1026 ^b ; 668 ^c	1,47 x 10 ⁻³	1,71	1,21
9,10-Fenantraquinona	208,22	1,57 x 10 ^{-3b} ; 2,33 x 10 ^{-7c}	7,49	1,09 x 10 ⁻³	2,52	2,36
Nitro-HPAs						
1-Nitronaftaleno	173,17	6,40 x 10 ⁻²	9,18	1,78 x 10 ⁻¹	3,19	2,91
1-Metil-4-nitronaftaleno	187,19	5,25 x 10 ⁻²	44,0	4,95 x 10 ⁻¹¹	3,41	4,19
2-Nitronaftaleno	173,17	3,78 x 10 ⁻²	9,24	1,58 x 10 ⁻¹	3,24	2,94
2-Nitrobifenil	199,20	3,62 x 10 ⁻¹	39,8	9,10 x 10 ⁻¹	3,38	-
1-Metil-5-nitronaftaleno	187,19	4,6 x 10 ⁻²	31,1	4,95 x 10 ⁻¹¹	3,43	4,19
1-Metil-6-nitronaftaleno	187,19	3,6 x 10 ⁻²	24,7	4,95 x 10 ⁻¹¹	3,50	4,18
2-Metil-4-nitronaftaleno	187,19	-	-	-	-	-
3-Nitrobifenil	199,20	4,8 x 10 ⁻¹	6,34	1,78 x 10 ⁻¹¹	3,87	3,71
4-Nitrobifenil	199,20	1,60 x 10 ⁻¹	1,22	9,10 x 10 ⁻¹	3,82	-
5-Nitroacenafteno	199,20	5,46 x 10 ⁻³	0,91	1,509	3,85	3,27
2-Nitrofluoreno	211,22	5,90 x 10 ⁻⁴	0,216	7,78 x 10 ⁻²	3,37	3,01

Fonte: USEPA (2021); Bandowe e Meusel (2017); Chempider (2021). Log k_{ow} : coeficiente de partição octanol-água; Log k_{oc} : coeficiente de partição carbono-água.

Embora apresentem baixos valores de solubilidade, os HPAs de baixa massa molar são mais solúveis do que os HPAs de elevada massa molar e apresentam maiores valores de pressão de vapor. Em contrapartida, os HPAs de elevada massa molar possuem baixa pressão de vapor, baixos valores para constante de Henry e elevada hidrofobicidade (elevados valores de log k_{ow}) comparados aos HPAs de baixa massa molar (ACHTEN; ANDERSSON, 2015; HUSSEIN; ABDEL-SHAIFY; MANSOUR, 2016; MURRAY; PENNING, 2018).

Em relação as fontes de emissão, os HPAs podem ser emitidos tanto por fontes naturais (emissões vulcânicas e queimadas florestais não iniciadas pelo homem) quanto por atividades antrópicas (exploração de petróleo, vazamento e/ou combustão incompleta de combustíveis fósseis, exaustão de motores automobilísticos e plantas industriais e queima de biomassa) (AHAD *et al.*, 2020; LIMA; FARRINGTON; REDDY, 2005; MIKI *et al.*, 2014). Os HPAs de fontes petrogênicas abrangem os HPAs de baixa massa molar e, principalmente, os *alquil*-HPAs (MIKI *et al.*, 2014), enquanto que os HPAs de elevada massa molar são mais comumente emitidos por fontes pirogênicas (MOSTERT; AYOKO; KOKOT, 2010). Durante a combustão, os compostos orgânicos presentes no combustível são fragmentados em pequenos radicais livres altamente reativos que podem reagir com outros compostos (por diferentes mecanismos) para originar os primeiros anéis aromáticos. As reações adicionais destes anéis aromáticos com pequenas moléculas com dois a três átomos de carbono, levam ao crescimento do sistema de anéis aromáticos e a formação de estruturas mais estáveis (LIMA; FARRINGTON; REDDY, 2005). O exato mecanismo de formação destes HPAs é complexo e diferentes propostas tem sido apresentadas por alguns autores (WEI, M. *et al.*, 2018).

Devido aos efeitos adversos destas substâncias na saúde humana e a sua capacidade de se converterem em derivados mais reativos, a Agência de Proteção Ambiental Americana (*United States Environmental Protection Agency – USEPA*) estabeleceu os 16 HPAs mostrados na Figura 1.2 (exceto coroneno e benzo[*k*]fluoranteno) como poluentes prioritários para fins regulatórios e monitoramento ambiental (MURRAY; PENNING, 2018; STOUT *et al.*, 2015).

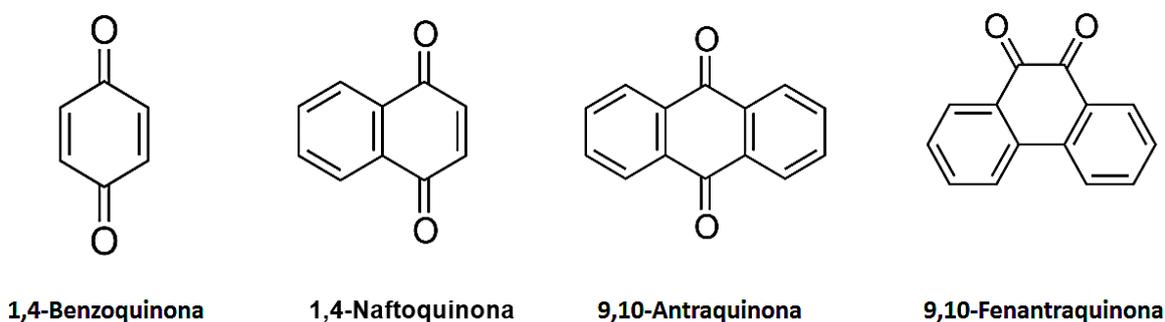
Geralmente, os HPAs de elevada massa molar são mais tóxicos dos que os HPAs de baixa massa molar (ACHTEN; ANDERSSON, 2015). A IARC (*International*

Agency for Research on Cancer) avaliou os dados experimentais de 60 HPAs, sendo que dentre estes, o benzo[*a*]pireno é classificado como carcinogênico para humanos (IARC, 2010). Outros HPAs tais como: ciclopenta[*c,d*]pireno, dibenzo[*a,h*]antraceno e dibenzo[*a,l*]pireno foram classificados como prováveis carcinogênicos para humanos, enquanto que benz[*j*]aceantrileno, benzo[*a*]antraceno, benzo[*b*]fluoranteno, benzo[*j*]fluoranteno, benzo[*k*]fluoranteno, benzo[*c*]fenantreno, criseno, dibenzo[*a,h*]pireno, dibenzo[*a,l*]pireno, indeno[*1,2,3-cd*]pireno e 5-metilcriseno foram classificados como possíveis carcinogênicos para humanos (IARC, 2010).

1.1.2.2 Quinonas

As quinonas pertencem ao grupo dos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos oxigenados (*oxi*-HPAs) e apresentam um ou mais oxigênios carbonílicos ligados ao anel aromático, podendo, em alguns casos, conter outros substituintes tais como grupos alquila ou hidroxila (LUNDSTEDT *et al.*, 2007; SOUSA; LOPES; DE ANDRADE, 2016). Assim, as quinonas podem ser classificadas como benzoquinonas, naftoquinonas, antraquinonas e fenantraquinonas (Figura 1.3) (SOUSA; LOPES; DE ANDRADE, 2016).

Figura 1.3 – Estruturas químicas de algumas quinonas investigadas neste estudo.



Fonte: Merck (2020).

As quinonas podem ser emitidas por fontes de origem biogênica ou antrópica. As que são oriundas de fontes biogênicas compõe a estrutura de alguns vegetais, artrópodes, fungos, bactérias, algas e vírus (MONKS *et al.*, 1992). As reações

fotoquímicas de HPAs com radicais hidroxila, radicais nitrato ou reações com ozônio que ocorrem na atmosfera também são fontes biogênicas de formação de quinonas. Por outro lado, a combustão incompleta de matéria orgânica (biomassa ou combustíveis fósseis) é a principal fonte de emissão antrópica de quinonas. (LUNDSTEDT *et al.*, 2007; MONKS *et al.*, 1992; SOUSA; LOPES; DE ANDRADE, 2016; WALGRAEVE *et al.*, 2010).

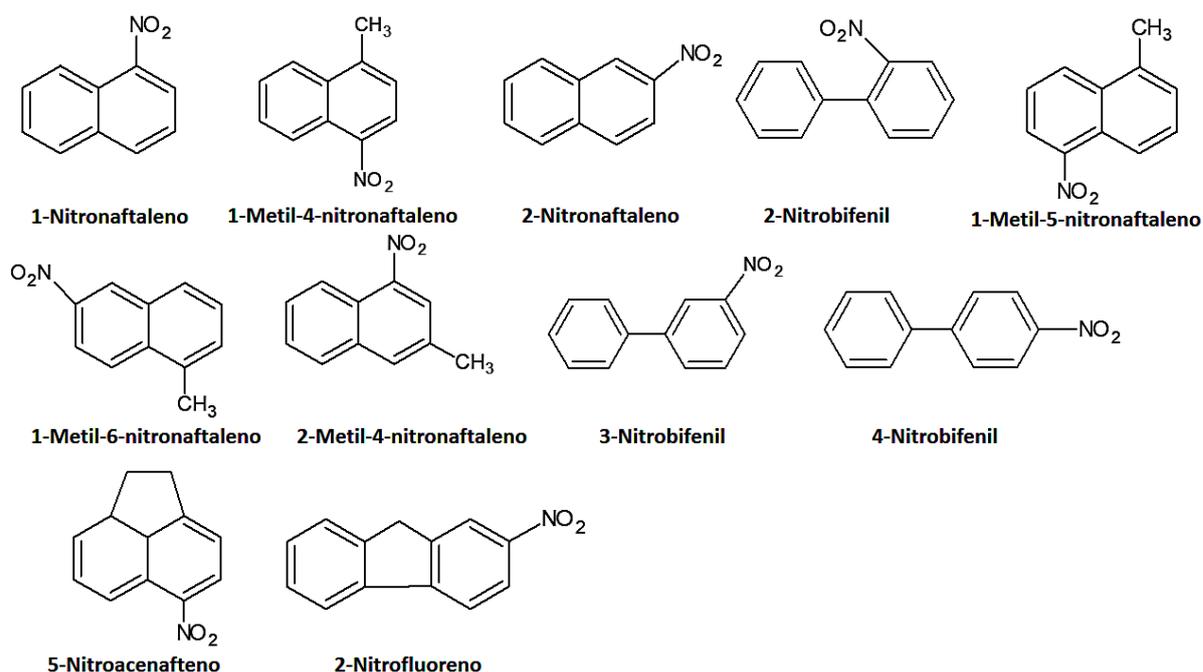
Em relação às propriedades físico-químicas, as quinonas apresentam maiores massas molares e solubilidade em água, mas em contrapartida, possuem menor pressão de vapor (GOLDFARB; SUUBERG, 2008; SOUSA; LOPES; DE ANDRADE, 2016; WALGRAEVE *et al.*, 2010). A solubilidade das quinonas em água diminui conforme aumenta-se o número de anéis aromáticos em sua estrutura química. Para fins de comparação, a 1,4-benzoquinona tem solubilidade de aproximadamente 11,1 g L⁻¹, enquanto que a 9,10-antraquinona, que possui uma estrutura química composta por três anéis aromáticos (Figura 1.3), tem solubilidade de apenas 1,35 mg L⁻¹ (SOUSA; LOPES; DE ANDRADE, 2016).

A toxicidade de oxi-HPAs, como as quinonas, ainda é pouco estudada se comparada com a toxicidade dos HPAs. No entanto, sabe-se que estes compostos são mais mutagênicos do que os HPAs correspondentes e seus efeitos em alguns organismos tem sido investigado nas últimas décadas (LUNDSTEDT *et al.*, 2007). Um estudo recente mostrou que alguns oxi-HPAs, como a 6H-benzo[cd]piren-6-ona podem induzir a problemas cardiovasculares em embriões de peixes-zebra mesmo em baixa dosagem (CUNHA *et al.*, 2020). Além disso, foi demonstrado que a exposição de embriões de peixes-zebra a 9,10-fenantraquinona, 1,9-benz-10-antrona e a xantona levou ao aumento do estresse oxidativo e uma redução da taxa de consumo de oxigênio celular (KNECHT *et al.*, 2013). Um outro estudo conduzido por Li, Yun e Gao (2019) forneceu evidências experimentais de que a exposição de células bronquiais humanas a baixas concentrações de oxi-HPAs, como a 9-fluorenona, pode facilitar o processo de metástase de câncer de pulmão (LI; YUN; GAO, 2019). O exato mecanismo que justifica a toxicidade dos oxi-HPAs é complexo e ainda não é bem conhecido. Contudo, sabe-se que as quinonas podem formar intermediários eletrofílicos que podem formar adutos com macromoléculas como o DNA, levando a efeitos genotóxicos e citotóxicos (LUNDSTEDT *et al.*, 2007).

1.1.2.3 Nitro-HPAs

Os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos nitrados (nitro-HPAs) são derivados dos HPAs que apresentam pelo menos um substituinte nitro (-NO₂) no anel aromático (Figura 1.4) (BANDOWE; MEUSEL, 2017; DIMASHKI; HARRAD; HARRISON, 2000). Esses compostos são emitidos por uma ampla variedade de fontes de combustão, tais como: exaustão de veículos, aquecedores a base de querosene, queima de biomassa e/ou fumaça de cigarro (DIMASHKI; HARRAD; HARRISON, 2000). No entanto, reações secundárias entre os HPAs e oxidantes atmosféricos tais como radicais OH e NO₃, e também com HNO₃, constituem uma importante fonte de nitro-HPAs, principalmente no ambiente atmosférico (COCHRAN *et al.*, 2016; FINLAYSON-PITTS; PITTS, 2000).

Figura 1.4 – Estrutura de alguns nitro-HPAs investigados neste estudo.



Algumas das propriedades físico-químicas dos nitro-HPAs estão diretamente correlacionadas com a massa molar e com o número de substituintes nitro no anel aromático. Deste modo, propriedades físico-químicas como ponto de fusão, coeficiente de partição octanol-água (k_{ow}), coeficiente de partição octanol-ar (k_{OA}) e o coeficiente partição carbono-água (k_{OC}) aumentam com o aumento da massa molar

ou de substituintes nitro. Por outro lado, a pressão de vapor, solubilidade em água e constante de Henry dos nitro-HPAs apresentam valores mais baixos do que os HPAs correspondentes (Tabela 1.5) (BANDOWE; MEUSEL, 2017).

Os nitro-HPAs são considerados mais mutagênicos do que os HPAs correspondentes. Além disso, os nitro-HPAs apresentam vários efeitos deletérios, tais como: apoptose, carcinogenicidade e efeitos citotóxicos crônicos (BANDOWE; MEUSEL, 2017; IARC, 2012; KONG *et al.*, 2021; MURRAY; PENNING, 2018). As principais rotas de exposição de seres humanos e animais aos nitro-HPAs são por inalação, ingestão e contato com a pele (BANDOWE; MEUSEL, 2017; MURRAY; PENNING, 2018).

1.1.3 Ocorrência de CPAs no ambiente aquático

Os CPAs podem chegar ao ambiente aquático por várias vias, sendo a deposição atmosférica, descarga de efluentes e vazamento de combustíveis fósseis as mais comuns (MENG *et al.*, 2019; ZHENG *et al.*, 2016). No mar, a exploração *offshore* e o transporte de petróleo corresponde a principal fonte de emissão de CPAs. Uma vez no ambiente aquático, os CPAs são preferencialmente sorvidos em materiais carbonáceos, sedimentos e até mesmo na biota aquática devido a sua baixa solubilidade em água e ao seu elevado coeficiente de partição log K_{ow} (Tabela 1.5) (SANTOS *et al.*, 2017; SOLA *et al.*, 2020; ZHANG, MINGMING *et al.*, 2019).

Dentre os CPAs, os HPAs são os poluentes orgânicos mais estudados e frequentemente encontrados nos corpos d'água. Contudo, devido ao elevado caráter hidrofóbico destes compostos, suas concentrações na fração dissolvida raramente excedem os níveis de ng L^{-1} . Alguns trabalhos recentes, como o publicado por Yang *et al.* (2019) avaliaram as concentrações de HPAs em amostras de água do mar (superficial) coletadas na Ilha de Dazhou (China), no período de Março a Dezembro de 2016. As concentrações variaram de $0,16 \text{ ng L}^{-1}$ (benzo[b]fluloranteno) a 251 ng L^{-1} (naftaleno) (YANG *et al.*, 2019). Similarmente, Zhang *et al.* (2021) investigaram os níveis de 16 HPAs prioritários em 22 amostras de água superficial coletadas no Mar do Sul da China. As concentrações variaram de $0,01 \text{ ng L}^{-1}$ (benzo[ghi]perileno) a 299 ng L^{-1} (fenantreno) (ZHANG *et al.*, 2021). Os níveis de HPAs em água doce (água de

rio e água de poços artesianos em postos de combustíveis) foram investigados por Santos et al. (2017) que encontraram concentrações de HPAs variando de 100 ng L⁻¹ (fluoreno) a 150 ng L⁻¹ (naftaleno) e 140 ng L⁻¹ (acenaftileno) a 700 ng L⁻¹ (naftaleno) em amostras de água de rio e de água de poço, respectivamente (SANTOS, *et al.*, 2017).

A maioria dos nitro-HPAs apresenta valores de solubilidade em água inferiores aos HPAs correspondentes. De acordo com alguns autores (BANDOWE; MEUSEL, 2017; YAFFE *et al.*, 2001), isso se deve ao aumento da massa molar devido a introdução de um substituinte nitro. Assim, não é raro que estes derivados sejam detectados com menor frequência nos corpos d'água se comparado aos HPAs correspondentes (BANDOWE; MEUSEL, 2017). Contudo, alguns trabalhos têm reportado a ocorrência de nitro-HPAs tanto em amostras de água doce quanto em amostras de água salgada. Santos et al. (2017) investigaram as concentrações de 27 nitro-HPAs em amostras de água de rio, água do mar e água de poços artesianos localizados em postos de combustíveis. Os autores detectaram somente o 3-nitrofenantreno e o 9-nitroantraceno em água do mar. No entanto, um número significativo de nitro-HPAs foram detectados e quantificados em amostras de água de poços artesianos em postos de combustíveis em concentrações variando de 2,02 µg L⁻¹ (3-nitrobenzo[*e*]pireno) a 5,61 µg L⁻¹ (1-nitropireno). Em um outro trabalho, Kong et al. (2021) avaliaram a ocorrência, distribuição e as fontes de emissão de HPAs e nitro-HPAs no lago Taihu (China). Os autores detectaram 10 diferentes nitro-HPAs (2-nitronaftaleno, 2-nitrobifenil, 5-nitroacenafteno, 2-nitrofluoreno, 9-nitroantraceno, 9-nitrofenantreno, 1-nitropireno, 2-nitrofluoranteno, 3-nitrofluoranteno e 6-nitrocriseno) com concentrações variando de 46,2 a 212 ng L⁻¹ (KONG *et al.*, 2021).

Ao contrário dos HPAs correspondentes, os oxi-HPAs são mais solúveis em água e, portanto, são detectados em maiores concentrações em meio aquoso (SOUSA; LOPES; DE ANDRADE, 2016). Guiñez et al. (2018), desenvolveu um procedimento analítico baseado na microextração líquido-líquido para determinação de nitro-HPAs e oxi-HPAs. O procedimento foi aplicado em amostras de água potável e água de lago. Somente o 2-fluorenocarboxialdeído foi detectado na amostra de água potável com concentração de 0,82 µg L⁻¹. Em amostras de água de lago, entretanto, as concentrações dos oxi-HPAs foram maiores, variando de 0,69 µg L⁻¹

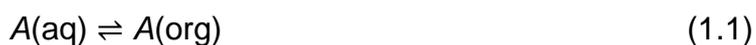
(naftacenodiona) a $2,36 \mu\text{g L}^{-1}$ (2-fluorenocarboxialdeído) (GUIÑEZ *et al.*, 2018). Santos *et al.* (2017) encontraram concentrações de oxi-HPAs mais elevadas em amostras de água de rio e água do mar. As concentrações variaram de $270 \mu\text{g L}^{-1}$ (1,4-benzoquinona) a $1605 \mu\text{g L}^{-1}$ (1,2-naftoquinona).

1.2 EXTRAÇÃO DE POLUENTES ORGÂNICOS EM MEIO AQUOSO

Poluentes orgânicos como agrotóxicos e CPAs são emitidos para o ambiente por fontes diversas e, portanto, são considerados ubíquos. A ocorrência destes em corpos d'água constituem uma grande preocupação, uma vez que podem trazer sérios riscos à saúde. Para fins de melhor compreender a ocorrência e a dinâmica de distribuição destas substâncias em amostras de água, muitas metodologias de extração têm sido propostas, cada uma delas apresentando vantagens e desvantagens, conforme discutidas a seguir.

1.2.1 Fundamentos da extração em meio aquoso

A extração de um determinado analito (A) em meio aquoso requer que a amostra aquosa (aq) seja colocada em contato com uma fase orgânica adequada (org), que pode ser um solvente orgânico ou um sólido imiscível em água. Ao promover uma agitação no sistema, o analito irá se distribuir entre a fase aquosa e a fase orgânica até que o equilíbrio seja estabelecido (Eq. 1.1) (MITRA, 2003; MOIDOVEANU; DAVID, 2002).



A magnitude da distribuição do analito entre as duas fases irá depender da sua constante de distribuição (K_d), que é dada pela Eq. 1.2 (MITRA, 2003):

$$K_d = \frac{\alpha_i (org)}{\alpha_i (aq)} \quad (1.2)$$

Onde α_i é a atividade do analito em solução. Assim, a K_d se torna bastante útil na otimização de procedimentos de extração de compostos orgânicos em amostras líquidas, principalmente para selecionar o solvente ou o sólido mais adequado para garantir a eficiência da extração. De acordo com a Eq. 1.2, se o valor de K_d para um determinado analito é grande, então boa parte do analito será extraída da fase aquosa para fase orgânica. Em contrapartida, se K_d é pequeno, logo a atividade do analito na fase orgânica será baixa e a maior parte dele permanecerá na fase aquosa (MITRA, 2003; SCHMIDT; STRUBE, 2018).

A K_d pode ser bastante útil para prever a quantidade de extrações necessárias para a completa remoção do analito da fase aquosa, principalmente quando se emprega a técnica de extração líquido-líquido convencional (LLE). Esta técnica tem sido utilizada há décadas na extração de poluentes orgânicos de amostras de água e, portanto, é considerada uma técnica oficial para estudos de monitoramento ambiental (EPA, 1986, 2007). No entanto, com a popularização da extração em fase sólida (SPE) e de outras técnicas derivadas da SPE, a LLE foi caindo em desuso devido a algumas desvantagens, como o elevado consumo de solventes orgânicos (muitos deles tóxicos), baixa velocidade analítica e baixa eficiência se comparada a SPE. Uma técnica que vem ganhando atenção e se popularizando nas últimas décadas é a extração em fase micro-sólida dispersiva.

1.2.2 Extração em fase micro-sólida dispersiva (D- μ SPE)

A D- μ -SPE é uma técnica de extração que surgiu como uma alternativa à SPE convencional (KHEZELI; DANESHFAR, 2017). Seu princípio está fundamentado na interação do analito com a fase orgânica, a qual está na forma de partículas finamente divididas de um sólido. Neste processo, dois fenômenos físico-químicos podem ocorrer quando o analito interage com o sólido: a adsorção e a absorção. A absorção envolve a penetração do analito na estrutura tridimensional do sólido, com forças atrativas mais fracas do que a adsorção. Em contraste, o processo de adsorção ocorre quando o analito interage na estrutura bidimensional do sólido, que resulta na sua

acumulação na superfície porosa deste sólido. Como cada um destes processos são difíceis de prever experimentalmente e muitas vezes ocorrem simultaneamente, logo, o termo sorção é normalmente empregado para se referir a interação do analito com partículas de um sólido, o qual é chamado de sorvente (MITRA, 2003).

Na D- μ -SPE, uma pequena quantidade (na faixa de μg a mg) de um determinado sorvente é dispersa na solução da amostra ou extrato, seguida de agitação (sorção dos analitos) e posterior isolamento do sorvente por filtração ou centrifugação. Posteriormente, os analitos são desorvidos em um solvente adequado e o extrato é analisado empregando-se uma técnica analítica apropriada. Diferente da SPE convencional, a D- μ -SPE baseia-se na rápida sorção dos analitos no sorvente através do fenômeno de dispersão. A dispersão permite que o sorvente interaja rápida e uniformemente com o analito, melhorando a precisão do método e reduzindo o tempo de extração (CHISVERT; CÁRDENAS; LUCENA, 2019; KHEZELI; DANESHFAR, 2017). Além disso, como na D- μ -SPE as partículas do adsorvente estão dispersas na amostra líquida (ao contrário da SPE tradicional em que o adsorvente está empacotado no cartucho), há um número maior de sítios ativos do adsorvente disponível para as moléculas dos analitos interagirem, mostrando uma tendência de extração mais eficiente quando a D- μ -SPE é empregada.

A eficiência da extração empregando a D- μ -SPE pode ser melhorada com emprego de agitação ou sonicação. Esse processo auxilia a reduzir a espessura do filme de Nernst - que existe na interface entre a fase aquosa e o sorvente - potencializando o processo de transferência de massa entre essas fases (JIANG; SZE; HIAN, 2005; KHEZELI; DANESHFAR, 2017). A expressão que relaciona o coeficiente de transferência de massa com a espessura do filme de Nerst é dada pela seguinte relação (Eq. 1.3):

$$\beta = \frac{D}{\delta} \quad (1.3)$$

Onde, β é o coeficiente de transferência de massa, D é o termo referente a agitação/sonicação e δ é a espessura do filme de Nernst (JIANG; SZE; HIAN, 2005).

Além da cinética de transferência de massa, outros fatores podem afetar a eficiência da D- μ -SPE na extração de poluentes orgânicos em meio aquoso, principalmente o tipo e quantidade do sorvente, pH da solução, força iônica da solução, tipo do solvente dispersor e o tipo e volume do solvente de dessorção e o volume da amostra. Além destes fatores, algumas propriedades físico-químicas dos analitos, como a volatilização, a pressão de vapor e a hidrofobicidade, precisam ser cuidadosamente avaliadas na etapa de otimização.

1.2.2.1 Fatores que afetam a eficiência D- μ -SPE

1.2.2.1.1 Propriedades físico-químicas dos analitos

- i) Volatilização: se refere ao particionamento do analito entre a fase líquida e a fase gasosa acima dela. Os compostos orgânicos considerados voláteis exibem uma grande tendência a passar da fase líquida (L) que estão dissolvidos para a fase gasosa (G). Em contrapartida, os compostos semivoláteis ou não-voláteis apresentam uma baixa tendência a escapar do meio líquido que estão dissolvidos para a fase gasosa. A constante de Henry (H'), que é adimensional, pode ser utilizada para estimar a tendência de fugacidade de uma determinada substância de uma amostra líquida (Eq. 1.4) para a atmosfera (MITRA, 2003; FARRELL; WAGHORNE, 2010):

$$H' = \frac{[A]_G}{[A]_L} \quad (1.4)$$

Logo, quanto maior o valor de H' maior será a tendência de uma substância volátil ou semi-volátil de escapar do meio líquido. Deste modo, a D- μ SPE terá maior eficiência na extração de analitos semivoláteis ou não-voláteis, uma vez que as perdas por volatilização serão mínimas (MITRA, 2003; FARRELL; WAGHORNE, 2010).

- ii) Pressão de vapor: é a pressão da substância na fase de vapor em equilíbrio com sua fase condensada em uma determinada temperatura.

A pressão de vapor é dependente da temperatura e, portanto, aumenta com o aumento da mesma. Além disso, varia amplamente de acordo com o grau de interações intermoleculares entre as moléculas do analito. Quanto mais forte as interações intermoleculares, menor a magnitude da pressão de vapor (MITRA, 2003; FOCUS, 2008).

- iii) Solubilidade: é a quantidade máxima de uma substância que pode ser dissolvida em fase líquida (ou aquosa) a uma determinada temperatura. A solubilidade é um parâmetro bastante útil para estimar o quanto de um determinado poluente pode estar disponível em água (fração dissolvida). Portanto, quando se emprega a D- μ SPE, a solubilidade do analito em água deve ser conhecida para ajustar os parâmetros de extração durante a otimização (MITRA, 2003; SARKER; LATIF; GRAY, 2006; BANDOWE; MEUSEL, 2017).
- iv) Hidrofobicidade: se refere a afinidade que um determinado composto dissolvido em água tem de migrar para uma fase orgânica. Compostos apolares ou de baixa polaridade, quando dissolvidos em água, não possuem energia suficiente para compensar as fortes ligações de hidrogênio que mantêm as moléculas de água unidas. Como resultado, a maior parte das moléculas destes compostos não são dissolvidas em água. No entanto, se uma determinada fase orgânica imiscível em água for adicionada ao sistema, ocorrerá uma partição e as moléculas do composto migrarão para a fase orgânica. Essa fase orgânica tem como referência o solvente *n*-octanol. Assim, a hidrofobicidade de um determinado composto pode ser estimada através do seu coeficiente de partição em *n*-octanol-água (K_{OW}) (MITRA, 2003; AMÉZQUETA et al., 2020). A Eq. 1.2 pode ser reescrita para expressar a distribuição de um determinado analito entre água (W) e *n*-octanol (O) (Eq. 1.5):

$$K_{OW} = \frac{[A]_O}{[A]_W} \quad (1.5)$$

Deste modo, quanto maior o valor de K_{OW} , maior é a tendência de um determinado analito dissolvido em água migrar para a fase orgânica, que pode ser um solvente orgânico ou um sorvente apolar (AMÉZQUETA et

al., 2020). Na D- μ SPE é de grande importância considerar a hidrofobicidade dos analitos na escolha do sorvente que será empregado na extração.

1.2.2.1.2 O tipo do sorvente

Quando se emprega a D- μ -SPE, o sorvente exerce um papel crucial, sendo a primeira variável a ser estudada e otimizada. O sorvente ideal deve ser compatível com os analitos investigados e deve permitir uma sorção rápida, reproduzível e eficiente. Também é fundamental que o sorvente permita uma fácil e completa dessorção dos analitos. Outras características desejáveis para um sorvente adequado são: elevada área superficial, porosidade, estabilidade, pureza e boa superfície de contato com a solução da amostra (CHISVERT; CÁRDENAS; LUCENA, 2019; KHEZELI; DANESHFAR, 2017; MITRA, 2003).

Com a introdução da extração em fase sólida dispersiva por Anastassiades e colaboradores em 2003, sorventes clássicos empregados na SPE tais como: ocatadecilsilano (C₁₈), amina primária-secundária (APS), silicato de magnésio (Florisil), sílica gel e alumina foram bastante empregados com propósito de se fazer a limpeza do extrato (*cleanup*) (ANASTASSIADES *et al.*, 2003). Com o desenvolvimento da D- μ SPE, os sorventes nanoestruturados, magnéticos e a base de polímeros molecularmente impressos (MIP) ganharam bastante popularidade devido a sua elevada seletividade e área superficial (CHISVERT; CÁRDENAS; LUCENA, 2019). No entanto, os sorventes clássicos podem ser empregados na D- μ SPE com bons rendimentos, principalmente devido a sua ampla disponibilidade no mercado e baixo custo. Porém, como desvantagem, estes sorventes apresentam baixa seletividade e área superficial inferior aos novos sorventes nanoestruturados.

De acordo com Poole (2003), os sorventes pode ser classificados em três principais tipos: i) óxidos inorgânicos; ii) sorventes de baixa especificidade e ii) sorventes seletivos ao composto ou a classe do composto. Florisil, alumina e sílica gel são os principais sorventes sólidos inorgânicos empregados em procedimentos baseados na SPE, principalmente na etapa de *cleanup*. Estes sorventes possuem uma baixa área superficial. No entanto, são capazes de fazer ligações de hidrogênio

com analitos polares, principalmente aqueles contendo grupos funcionais hidroxila, ácido carboxílico, ácido sulfônico e fenol (BUSZEWSKI; SZULTKA, 2012; POOLE, 2003). A atividade destes solventes pode ser controlada através da adição de água ao sorvente seco (previamente seco em estufa ou mufla) antes do uso. Isso é particularmente importante para se evitar processos de sorção irreversível. Além da baixa seletividade e área superficial, outra desvantagem deste tipo de sorvente é a degradação catalítica que alguns analitos sensíveis podem sofrer (ex. herbicidas polares), o que pode refletir em baixas recuperações para estes compostos (POOLE, 2003).

Em relação aos sorventes de baixa especificidade, destacam-se principalmente aqueles quimicamente ligados à sílica, polímeros porosos e a base de carbono. Dentre os sorventes quimicamente ligados a sílica, destaca-se, principalmente, o C₁₈. Este sorvente é sintetizados à partir da reação de grupos silanóis na superfície das partículas da sílica gel com um organoclorosilano contendo uma longa cadeia octadecil, que permite interações hidrofóbicas via forças de van der Waals com substituintes alquila e anéis aromáticos dos analitos (MITRA, 2003; POOLE, 2003). Este tipo de sorvente é amplamente utilizado para retenção de moléculas pequenas e apolares e/ou de baixa polaridade, tais como HPAs e seus derivados, agrotóxicos organoclorados, piretroides e estrobirulinas, além de vários interferentes endócrinos (BUSZEWSKI; SZULTKA, 2012; NASIRI; AHMADZADEH; AMIRI, 2020; POOLE, 2003). No entanto, as extrações utilizando este tipo de sorvente devem ser conduzidas em uma faixa de pH estreita (2-8), devido a hidrólise da ligação entre a fase orgânica e o suporte sólido em extremos de pH. Além disso, outras desvantagens importantes são os baixos volumes de *breakthrough* (capacidade de retenção) para moléculas pequenas e altamente polares e a presença de uma pequena quantidade de grupos silanóis residuais ionizados, os quais podem reter compostos básicos por mecanismos de troca iônica (POOLE, 2003).

Diferente dos sorventes quimicamente ligados a sílica, como o C₁₈, os sorventes poliméricos macroporosos, tais como o Amberlite XAD-4 e o OASIS modificado superficialmente e com balanço hidrofílico-lipofílico (HLB), apresentam uma ampla faixa de pH (0-14), além de uma grande área superficial (800 m² g⁻¹). O sorvente OASIS HLB se destaca devido a presença de um grupo hidrofílico *N*-vinilpirrolidona, que aumenta sua interação/dispersão com a amostra aquosa e de um

grupo lipofílico divinilbenzeno, que aumenta as interações π - π com anéis aromáticos (DIAS; POOLE, 2002; POOLE, 2003). Além deste, Amberlite XAD-4 e Chromosorb G/AWDMCS também tem sido empregados com boa eficiência na sorção de poluentes orgânicos, principalmente na fase gasosa (LÓPEZ; COSCOLLÀ; YUSÀ, 2017, 2018).

1.2.2.1.3 Influência do pH da solução

O pH exerce uma influência crítica no rendimento da D- μ -SPE. Como já mencionado, valores de pH fora da faixa de trabalho de alguns sorventes quimicamente ligados à sílica favorece degradação do mesmo. Além disso, o pH da solução afeta a distribuição das espécies de compostos orgânicos ionizáveis. Deste modo, quando os analitos são compostos ionizáveis é importante ajustar o pH da solução de modo a forçar o analito para que ele exista predominantemente na forma ionizada ou na forma não-ionizada (neutra) (MITRA, 2003). No caso de sorventes apolares, onde a principal forma de sorção é através de interações hidrofóbicas, é importante manter o analito em sua forma neutra para aumentar a retenção no sorvente durante a extração (BORGES; GORAIEB; COLLINS, 2012; MITRA, 2003). No entanto, uma parte significativa de poluentes orgânicos da classe dos CPAs (como os HPAs e os nitro-HPAs) e dos agrotóxicos (principalmente os organoclorados) não são ionizáveis em meio aquoso ou sofrem pouca ou nenhuma influência do pH (FARAJZADEH, MIR ALI; YADEGHARI; KHOSH MARAM, 2017; HUANG; KEE, 2015; WANG, P. *et al.*, 2018).

1.2.2.1.4 Solvente dispersor

Na D- μ -SPE, é de fundamental importância que o sorvente esteja totalmente disperso na solução para aumentar a interação com os analitos. Quando se emprega sorventes hidrofóbicos, como C₈, C₁₈ ou XAD-4, é necessário empregar um solvente orgânico que aumente a dispersão do sorvente em meio aquoso e evite a formação

de agregados na parte superficial da solução. O volume do solvente dispersor também é um fator a ser otimizado, uma vez que volumes muito reduzidos podem ser insuficientes para promover uma dispersão adequada do sorvente em meio aquoso. Em contrapartida, volumes excessivos podem afetar a polaridade da solução, reduzindo a retenção do sorvente (FARAJZADEH, MIR ALI; YADEGHARI; KHOSH MARAM, 2017). Farajzadeh, Yadeghari e Khoshmaram (2017) avaliaram a eficiência do uso da ACN, metanol, 2-propanol e acetona como solvente dispersor e volumes destes solventes variando de 0,5 mL a 2 mL. Como resultado, o uso de 1 mL de 2-propanol apresentou uma melhor eficiência na dispersão do C₈ sem afetar significativamente a polaridade da solução.

1.2.2.1.5 Força iônica da solução

A força iônica é definida como a medida de campo elétrico de íons dissolvidos em solução e ela aumenta com o aumento da concentração ou da carga dos íons (IUPAC, 2014). A força iônica exerce influência na D- μ -SPE e a magnitude desta influência dependerá da concentração do sal (sólido iônico) em solução. A força iônica é mais comumente referida como efeito “*salting out*” e é ajustada pela adição de um sal, geralmente o cloreto de sódio (NaCl), para diminuir a solubilidade do analito em meio aquoso e, com isso, induzi-lo a interagir com o sorvente (fase orgânica) disperso no meio (FARAJZADEH; YADEGHARI; KHOSH MARAM, 2018; FARAJZADEH, MIR ALI; YADEGHARI; KHOSH MARAM, 2017). No entanto, elevadas concentrações de sal podem aumentar a viscosidade da solução, diminuindo a eficiência da extração devido à redução no coeficiente de difusão dos analitos (FARAJZADEH; YADEGHARI; KHOSH MARAM, 2018). Deste modo, a concentração de sal é um parâmetro que também deve ser otimizado para garantir a máxima eficiência na extração dos analitos.

1.2.2.1.4 Solvente de dessorção

O solvente de dessorção é uma variável crítica que deve ser levada em consideração quando se emprega a D- μ SPE. O solvente ideal deve permitir a rápida e completa dessorção dos analitos sorvidos nas partículas sólidas do sorvente (MITRA, 2003). Para isso, o solvente de dessorção deve ter uma polaridade compatível com os analitos, permitindo compensar as forças de atração entre ele e os sítios ativos do sorvente (FARAJZADEH, M. A.; YADEGHARI; KHOSH MARAM, 2018; MARCÉ; BORRULL, 2000). Além disso, o uso de volumes reduzidos do solvente de dessorção devem ser priorizadas a fim de permitir a concentração do analito. No entanto, o volume deve ser grande o suficiente para permitir a completa remoção dele do sorvente sólido (JARDIM, 2010; MOIDOVEANU; DAVID, 2002). Deste modo, a escolha do tipo de solvente e do volume a ser utilizado requer uma etapa prévia de otimização, de modo a obter a melhor resposta analítica para todos os analitos.

A polaridade do solvente é outro parâmetro muito importante que influencia diretamente na eficiência da D- μ SPE e é a primeira propriedade a ser avaliada na seleção do solvente extrator (Tabela 1.6). Entretanto, também é importante considerar fatores como viscosidade, baixa tendência para formação artefatos, baixa inflamabilidade, baixa toxicidade e baixo risco de explosão (SARKER; LATIF; GRAY, 2006).

Tabela 1.6– Propriedades físico-químicas de alguns solventes utilizados com frequência na extração de poluentes orgânicos.

Solvente	Índice de polaridade	P. E. (°C)	Viscosidade (cPoise)
<i>n</i> -hexano	0,0	69	0,33
Tolueno	2,4	110	0,59
Diclorometano	3,1	41	0,44
Butanol	3,9	118	2,98
2-propanol	3,9	82	2,30
<i>n</i> -propanol	4,0	92	2,27
Clorofórmio	4,1	61	0,57
Acetato de etila	4,4	77	0,45
Acetona	5,1	56	0,32
Metanol	5,1	65	0,60
Etanol	5,2	78	1,20
Acetonitrila	5,8	81	0,37
Água	9,0	100	1,00

Fonte: Sarker, Latif e Gray (2006).

A escolha do solvente de dessorção mais adequado também depende das propriedades químicas dos analitos, do tipo de sorvente que será empregado e da compatibilidade do solvente com a técnica instrumental de análise. Para dessorção de CPAs, solventes com uma ampla faixa de polaridade tem sido empregados, tais como: diclorometano (DCM) (SABUROUH; JABBARI; PARASTAR, 2020), acetonitrila (ACN) (ASFARAM *et al.*, 2020; SHAHRIMAN *et al.*, 2018; ZHOU *et al.*, 2021), acetato de etila (AcEt) (CAETANO *et al.*, 2019), *n*-hexano (AZIZI; SHAHHOSEINI; BOTTARO, 2020; NAING; YAU LI; LEE, 2016; NASCIMENTO, M. N.; DA ROCHA; DE ANDRADE, 2019) ou misturas binárias entre *n*-hexano/DCM (KAMRAN *et al.*, 2020). Para a classe dos agrotóxicos predomina o uso de solventes como ACN (AMIRI *et al.*, 2019), acetona (RASHIDI NODEH *et al.*, 2017) e metanol (MeOH) (CASADO; SANTILLO; JOHNSTON, 2018; LIU *et al.*, 2020; SALISAENG *et al.*, 2016). Para técnicas como a cromatografia a líquido de alta eficiência (HPLC), solventes de dessorção como a ACN e o metanol são preferencialmente utilizados devido a sua compatibilidade com a fase móvel, enquanto que, na cromatografia a gás, praticamente todos os solventes citados são compatíveis.

1.2.2.1.5 Volume da amostra

O volume da amostra também afeta a eficiência da extração D- μ SPE. O aumento do volume da amostra leva também a um aumento nos fatores de enriquecimento dos analitos (ZHANG, MEIXING *et al.*, 2019). Contudo, existe um volume máximo da amostra que pode ser utilizada sem que uma determinada massa de um sorvente específico atinja a saturação (volume de *breakthrough*). O volume máximo de amostra que pode ser utilizada sem perda na eficiência da extração pode ser otimizado utilizando-se diferentes volumes de uma amostra contendo o analito em uma concentração constante ou diferentes volumes com concentrações variáveis do analito (MITRA, 2003). Sorventes nanoestruturados, magnéticos ou a base de polímeros impressos são bastante eficientes na retenção dos analitos e, portanto, volumes reduzidos de amostra podem ser utilizados (AMIRI *et al.*, 2019; AZIZI; SHAHHOSEINI; BOTTARO, 2020; RASHIDI NODEH *et al.*, 2017). Todavia, é necessária uma etapa de otimização, uma vez que volumes muito baixos de amostra

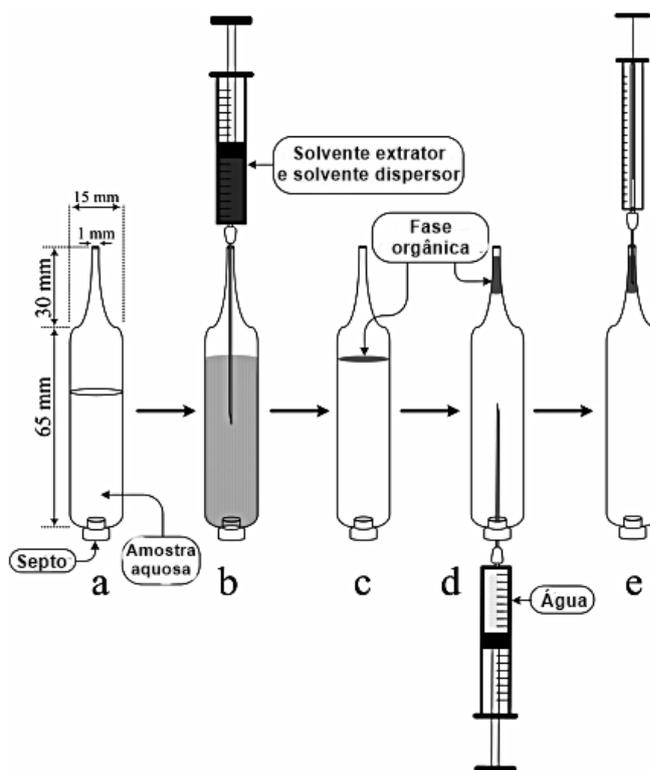
pode não permitir a completa dispersão do sorvente em solução, reduzindo sua interação com os analitos (ZHOU *et al.*, 2021).

Além da cuidadosa otimização dos parâmetros físico-químicos que afetam a D- μ SPE, a escolha do recipiente ou do dispositivo adequado para conduzir a extração é de fundamental importância para garantir uma dispersão eficiente do sorvente na amostra líquida.

1.3 Desenvolvimento de dispositivos customizados para extração de poluentes orgânicos em meio aquoso

O desenvolvimento de dispositivos especialmente desenhados para extração de poluentes orgânicos em água tem sido bastante explorada em conjunto com a microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME) (FARAJZADEH, MIR ALI *et al.*, 2009; KOCÚROVÁ *et al.*, 2012). Em um trabalho desenvolvido por Farajzadeh *et al.* (2009), um dispositivo de extração em forma de seringa foi desenvolvido para extração de agrotóxicos organofosforados de amostras de água usando a DLLME com um sistema de solventes menos densos (acetona e ciclohexano) que a água. Como a fase orgânica se mantém na parte superior da amostra de água, o dispositivo foi desenhado para permitir a injeção de água através de um septo na parte inferior, deslocando-se a fase orgânica para um tubo estreito na parte superior, onde a fase orgânica é coletada utilizando-se uma microseringa (Figura 1.5).

Figura 1.5 – Procedimento de extração por DLLME com um dispositivo de extração em forma de seringa. A: introdução da amostra de água no dispositivo. B: adição do solvente extrator e do solvente dispersor. C: formação da fase orgânica na parte superior da solução. D: Adição de água na solução visando deslocar a fase orgânica para o tubo estreito na parte superior do dispositivo. E: coleta da fase orgânica com uma microseringa e posterior injeção em um sistema de cromatografia a gás.



Fonte: adaptado de Farajzadeh et al. (2009)

O procedimento desenvolvido apresentou valores de recuperação da extração entre 70 % a 100 % e recuperações relativas variando de 80 % a 91 %, os quais foram considerados satisfatórios. Uma abordagem similar foi empregada por Saraji et al. (2019) para extração de ácidos cloroacéticos (ácido monoacético, ácido dicloroacético e ácido tricloroacético) de amostras de água (SARAJI *et al.*, 2019). Os autores desenvolveram um dispositivo de vidro em forma de seringa com êmbolo de PTFE. Após o procedimento de extração da amostra de água utilizando-se o dispositivo, o êmbolo de PTFE foi pressionado, direcionando-se a fase orgânica (75 μ L *n*-octanol e 1 mL, ACN) para um tubo estreito na parte superior. A fase orgânica foi coletada com uma microseringa e injetada em um cromatográfico a gás com detector de captura de elétrons (GC-ECD).

A principal desvantagem dos dispositivos em forma de seringa mencionados anteriormente é a necessidade de se empregar injeção manual, a qual compromete a velocidade analítica do procedimento. Pensando em solucionar este problema, Guo, Chia e Lee (2016) desenvolveram um sistema automatizado para realizar a extração de HPAs em água por meio da técnica de demulsificação automatizada assistida por agitação combinada com a DLLME. Nesse procedimento, um volume de 160 μL de uma mistura de *n*-hexano:acetona (1:3, v v⁻¹) foi transferida para um dispositivo de extração similar a um *vial* do tipo *headspace* contendo um tubo capilar que ligava a parte inferior à parte superior que contém um septo para introdução de uma microseringa. A extração dos analitos foi realizada em uma plataforma de agitação e, posteriormente, a fase orgânica foi injetada em um GC-MS através de um sistema automatizado de injeção especialmente projetado para este fim. O procedimento apresentou fator de pré-concentração variando de 119 a 168 e recuperação relativa na faixa de 85,8 % - 105,9 % (GUO; CHIA; LEE, 2016).

Dispositivos baseados no uso de seringas foram efetivamente empregados em procedimentos envolvendo a D- μSPE . Em um trabalho realizado por García-Valverde et al. (2016), um dispositivo baseado em uma seringa de polietileno foi empregado na extração de clorofenóis em amostras de urina. Aproximadamente 100 mg de fibra de carbono foi inserida no interior do dispositivo e cerca de 10 mL da amostra foi aspirada para dentro dele, realizando o processo de dispersão (Figura 1.6). Após limpeza do sorvente com água, os analitos foram desorvidos com 300 μL de clorofórmio e 2 μL da solução resultante foi injetada no GC-MS. O procedimento desenvolvido permitiu alcançar limites de detecção variando de 0,1 $\mu\text{g L}^{-1}$ a 1,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ e valores de recuperação relativa variando de 74,5 $\mu\text{g L}^{-1}$ a 113 $\mu\text{g L}^{-1}$ (GARCÍA-VALVERDE *et al.*, 2016).

Figura 1.6 – Dispositivo baseado em uma seringa de polietileno utilizado para extração de clorfenóis em urina por D- μ SPE. 1A (i) fibra de algodão para filtração da amostra. 1A(ii) fibra de carbono. 1B seringa com ponteira de micropipeta e algodão, utilizados como fitro.

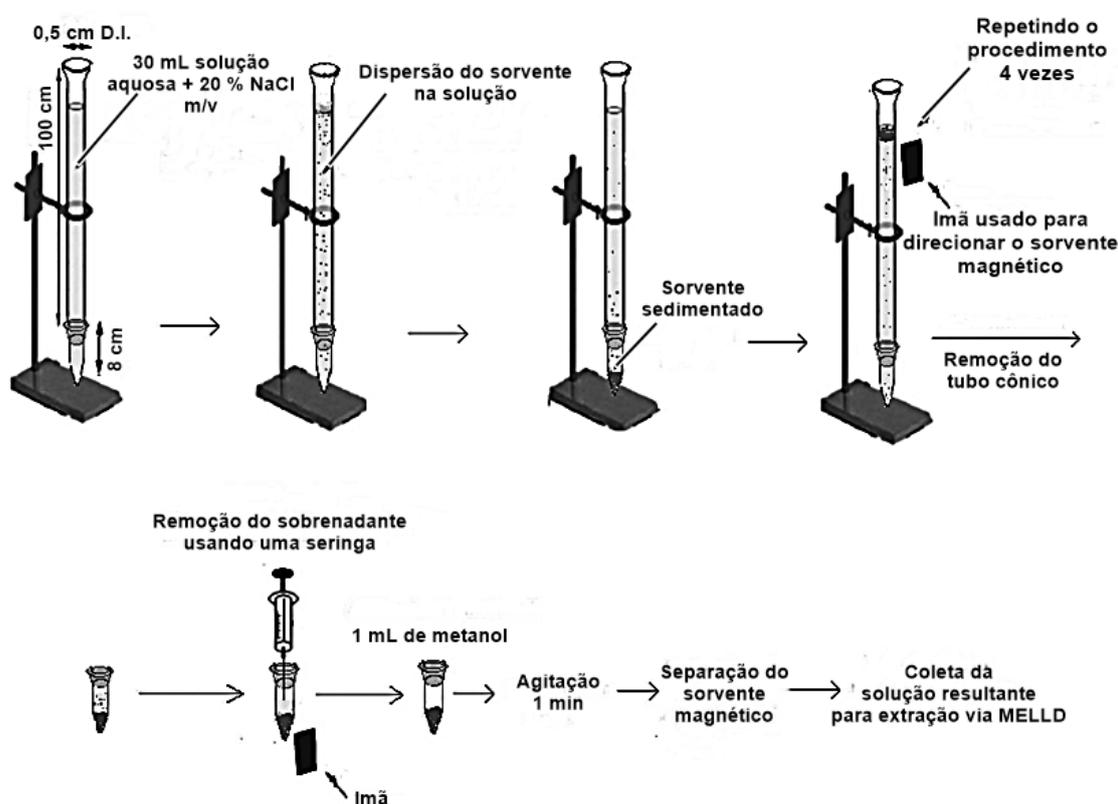


Fonte: Adaptado de García-Valverde et al. (2016).

Um procedimento similar foi desenvolvido por Shi et al. (2019) para extração de HPAs em amostras de infusão de chá. Os autores desenvolveram um procedimento D- μ SPE baseado na dispersão de fibras de carbono na amostra no interior de uma seringa de 12 mL conectada a um cartucho de SPE contendo lã de vidro. Após condicionamento do sorvente, 10 mL da amostra de infusão de chá foi transferida para o interior da seringa e o sistema foi submetido à extração por ultrassom durante 5 min. Após extração, a amostra foi filtrada através do cartucho de SPE e o sorvente foi retido na lã de vidro. Em seguida, 2 mL de tolueno foi adicionado ao sorvente para a etapa de dessorção que foi realizada utilizando-se ultrassom por 2 min. O volume de 1 μ L da solução final foi injetada no GC-MS. O procedimento desenvolvido apresentou baixos valores de limite de detecção, que variou de 0,012 μ g L⁻¹ a 0,014 μ g L⁻¹ e valores de recuperação relativa variando de 76,8 % a 126 % (SHI *et al.*, 2019). Procedimentos semelhantes baseados em dispositivos de seringa empregaram sorventes à base de óxido de grafeno e aerogel de grafeno (HAN *et al.*, 2018; TANG, S. *et al.*, 2019).

Uma alternativa aos dispositivos de seringa ou aqueles desenhados em forma de seringa, são os dispositivos de tubo estreito, desenvolvidos por Farajzadeh, Yadeghari e Khoshmaram (2017; 2018) para extração de alguns agrotóxicos por EF- μ SD combinada com DLLME. O dispositivo basea-se em um cilindro de vidro de 10 cm (comprimento) x 0,5 cm (diâmetro interno) com fundo cônico ao qual é conectado um tubo de vidro cônico de 8 cm (Figura 1.7).

Figura 1.7 – Esquema de extração utilizando um dispositivo de tubo estreito.



Fonte: adaptado de Farajzadeh, Yadeghari e Khoshmaram (2018).

O dispositivo de tubo estreito foi preenchido com 30 mL da solução contendo os analitos e, em seguida, uma massa aproximada de 100 mg de um sorvente magnético foi dispersa na solução. O sorvente se depositou lentamente (por gravidade) no fundo do tubo cônico de 8 cm. Através de um ímã, o sorvente magnético foi direcionado para o topo do dispositivo e o procedimento de extração foi repetido por quatro vezes. Posteriormente, o tubo cônico de 8 cm contendo o sorvente foi desconectado do dispositivo e os analitos foram desorvidos do sorvente magnético

com 1 mL de metanol seguido de agitação por vortex. A solução resultante foi recolhida para a etapa de DLLME (FARAJZADEH, M. A.; YADEGHARI; KHOSHAMARAM, 2018). Após otimização e validação, o procedimento desenvolvido apresentou baixos valores de limite de detecção, os quais variaram de 0,03 $\mu\text{g L}^{-1}$ a 0,09 $\mu\text{g L}^{-1}$ e valores de recuperação absoluta de 64 % a 82 %. Dentre as principais vantagens deste procedimento, destaca-se a simplicidade e o baixo custo para aquisição dos materiais para montagem do dispositivo. Em contrapartida, o procedimento apresenta uma baixa velocidade analítica, não sendo capaz de processar múltiplas amostras simultaneamente.

Embora a avaliação prévia dos fatores que afetam a etapa de extração por D- μSPE e os dispositivos empregados na extração sejam de fundamental importância, somente através de uma otimização destes fatores é possível obter a melhor condição experimental que forneça a máxima eficiência. Para isso, a otimização empregando planejamento de experimentos tem se mostrado extremamente eficaz para obtenção das condições experimentais ótimas.

1.4 Técnicas de planejamento de experimentos

1.4.1 Fundamentos

Grande parte dos trabalhos envolvendo a D- μSPE realizam a etapa de otimização das condições experimentais de maneira univariada, ou seja, enquanto um fator (variável independente) é mudado de nível, os demais fatores se mantêm constantes. No entanto, se comparada às técnicas de otimização multivariada, a otimização univariada apresenta algumas desvantagens, tais como: elevado número de experimentos, elevado consumo de tempo e de reagentes e perda de informações importantes acerca do sistema estudado, uma vez que as interações entre os fatores não são consideradas (BEZERRA *et al.*, 2008; FERREIRA, 2015).

Atualmente, com a popularização e a disponibilidade de vários softwares especializados em tratamento de dados estatísticos, as técnicas de planejamento de experimentos tem sido cada vez mais utilizadas em experimentos de otimização (TEÓFILO; FERREIRA, 2006). Como vantagens dessas técnicas, destacam-se: o

reduzido número de experimentos, as interações entre os fatores estudados são consideradas na etapa de otimização, a possibilidade de identificação das significâncias dos fatores na resposta analítica e capacidade de otimizar múltiplas respostas simultaneamente (FERREIRA, 2015). Além disso, por meio destas técnicas são gerados funções matemáticas (modelos) que descrevem o sistema estudado (domínio experimental) e podem ser aproximadas a polinômios (TEÓFILO; FERREIRA, 2006). Deste modo, se os modelos gerados forem devidamente ajustados e validados, eles serão capazes de prever novos valores para a variável dependente (resposta) em qualquer região do domínio experimental estudado (CALADO; MONTGOMERY, 2003).

As técnicas de planejamento de experimentos podem ser divididas em dois principais grupos: as técnicas baseadas em estudos de triagem de fatores e as técnicas de metodologia de superfície de respostas (MSR). As técnicas de triagem de fatores são bastante úteis quando se deseja avaliar quais fatores influenciam na resposta de um sistema químico e a magnitude do efeito de cada fator. As principais técnicas de triagem são o planejamento fatorial completo e o planejamento fatorial fracionário (TEÓFILO; FERREIRA, 2006).

O planejamento fatorial completo de dois níveis é bastante utilizado como ferramenta de triagem quando se tem dois ou três fatores que se queira investigar em dois níveis distintos (nível inferior (-1) e nível superior (+1)). A quantidade de experimentos necessários para executar um planejamento fatorial de dois níveis pode ser calculada pela expressão $n = 2^k$, onde n é o número de experimentos necessários e k é o número de fatores. Por exemplo, quando se deseja avaliar a influência de dois fatores na resposta analítica de um determinado processo, um total de quatro experimentos devem ser realizados ($n = 4$). Da mesma forma, se $k = 3$, logo $n = 8$, e assim sucessivamente (CALADO; MONTGOMERY, 2003; FERREIRA, 2015; TEÓFILO; FERREIRA, 2006).

De modo a estimar o erro experimental, réplicas devem ser adicionadas ao planejamento. Geralmente são realizadas três réplicas na região central do planejamento (0). No entanto, a depender do número de experimentos, podem ser obtidas réplicas de todos os níveis do planejamento (replicatas genuínas) (FERREIRA, 2015). É importante ressaltar, porém, que o analista deve selecionar com

cuidado os fatores que deseja avaliar, uma vez que um número de fatores maior do que quatro pode tornar o planejamento fatorial completo de dois níveis inviável experimentalmente devido à grande quantidade de experimentos necessários. Além disso, é observado que os efeitos de interação de altas ordens (principalmente quando $k > 4$) são quase sempre não significativos (TEÓFILO; FERREIRA, 2006).

Quando o número de fatores a serem avaliados é muito grande pode-se optar por um planejamento fatorial fracionário. Neste tipo de planejamento, os efeitos principais são confundidos com os efeitos de interação dos outros fatores, o que leva a uma redução do número de experimentos necessários. Assim, para um planejamento fatorial fracionário de dois níveis, o número de experimentos é dado pela expressão $n = 2^{k-x}$, onde x corresponde a redução de experimentos. Se $x=1$, então o número de experimentos corresponderá a metade do que seria no planejamento fatorial completo. Se $x=2$, o número de experimentos será 1/4 do que seria no planejamento fatorial completo (FERREIRA, 2015). A matriz de planejamento gerada neste tipo de planejamento é chamada de “fração meia” (FERREIRA, 2015; TEÓFILO; FERREIRA, 2006).

O planejamento fatorial completo de dois níveis (e o fracionário) geram modelos matemáticos lineares, que são os mais simples e podem ser obtidos (calculados) sem a ajuda de softwares estatísticos (BEZERRA *et al.*, 2008; CALADO; MONTGOMERY, 2003; FERREIRA, 2015). O modelo linear para dois fatores é dado pela seguinte equação (Eq. 1.6):

$$\hat{y} = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_{12}X_1X_2 + \varepsilon \quad (1.6)$$

Onde \hat{y} é o valor previsto pelo modelo, b_0 é a média global de todas as respostas do experimento; b_1X_1 e b_2X_2 correspondem aos coeficientes dos termos lineares do modelo; $b_{12}X_1X_2$ é o coeficiente do termo de interação entre os dois fatores e ε é o erro aleatório associado ao modelo (TEÓFILO; FERREIRA, 2006).

O modelo linear só é capaz de prever os efeitos principais e interações e, deste modo, espera-se uma linearidade nos efeitos dos fatores, que pode ser graficamente representada em um plano. Se os termos lineares forem significativos, então haverá

uma torção no plano. Contudo, se houver uma curvatura nesse plano (região de máximo), então o modelo linear não será capaz de explicar essa fonte de variação, sendo necessário o emprego de um modelo mais complexo contendo termos quadráticos (BEZERRA *et al.*, 2008; CALADO; MONTGOMERY, 2003; TEÓFILO; FERREIRA, 2006). Um exemplo de um modelo quadrático para dois fatores x_1 e x_2 é mostrado na Eq. 1.7.

$$\hat{y} = b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + b_{11}x_1^2 + b_{22}x_2^2 + b_{12}x_1x_2 + \varepsilon \quad (1.7)$$

Onde $b_{11}x_1^2$ e $b_{22}x_2^2$ são os termos quadráticos adicionados ao modelo.

Tanto o modelo linear quanto o modelo quadrático podem ser ajustados aos dados experimentais por meio de técnicas estatísticas que estão inseridas dentro da Metodologia de Superfície de Resposta (MSR). As técnicas da MSR envolvem matrizes, onde os fatores são estudados em no mínimo três níveis. Isso possibilita a obtenção de condições críticas, ou seja, uma região de máxima resposta (que normalmente é o ponto ótimo), uma região de mínimo ou de sela (onde o pontos de máximo e mínimo ocorrem simultaneamente) (BEZERRA *et al.*, 2008; FERREIRA, 2015). Essas condições críticas são obtidas através da derivação de um modelo quadrático.

O planejamento composto central, planejamento Box Behnken, planejamento fatorial de três níveis e a matriz de Doehlert são algumas das principais técnicas de MSR, sendo que todas elas tem vantagens e desvantagens, ficando a critério do analista a escolha da técnica a ser aplicada. Além disso, essas técnicas são estabelecidas mediante figuras geométricas, as quais apresentam níveis e valores codificados em função destas figuras (FERREIRA, 2015). Os fatores que apresentaram efeitos fortemente significativos no planejamento fatorial são estudados em planejamentos que possuem uma maior quantidade de níveis enquanto que fatores que afetaram a resposta em uma menor extensão são estudados em uma menor quantidade de níveis (FERREIRA, 2015; FERREIRA, S. L. C. *et al.*, 2007). Dentre os planejamentos de MSR citados, a matriz de Doehlert é a que possui maior

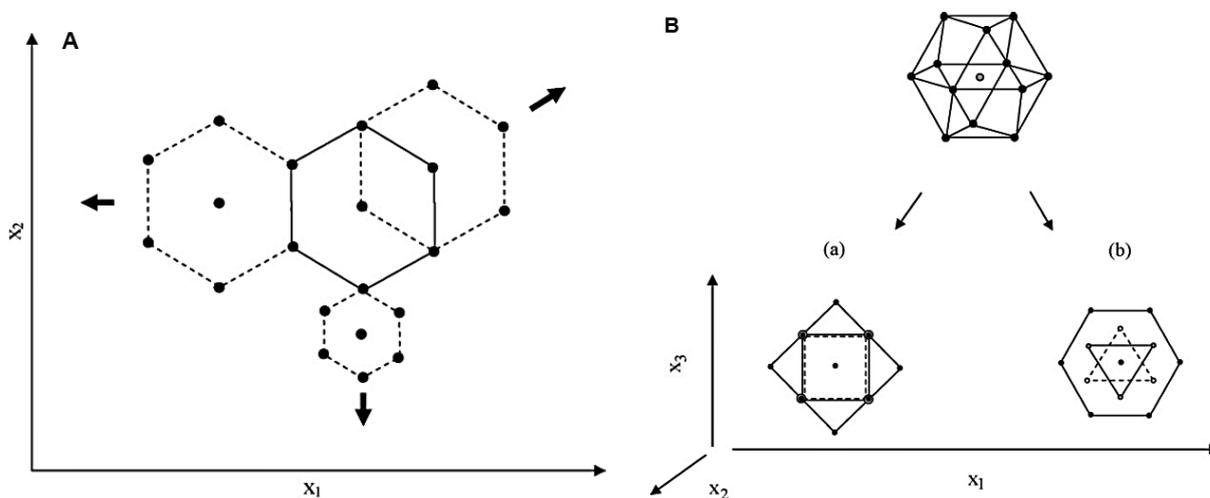
eficiência, ou seja, requer uma quantidade menor de experimentos para obtenção do modelo matemático (FERREIRA, 2015; FERREIRA, S. L. C. *et al.*, 2007).

1.4.2 Matriz de Doehlert

Este tipo de planejamento foi desenvolvido por David Doehlert em 1970 e descreve uma distribuição uniforme dos pontos sobre um espaço esférico usando uma quantidade menor de experimentos comparado a outros planejamentos de MSR (FERREIRA, 2015; FERREIRA, S., 2004). Embora o desenho que caracteriza a matriz de Doehlert não seja ortogonal nem rotacionável, ele não fica aquém da qualidade requerida para o uso em procedimentos de otimização (FERREIRA, S., 2004).

Para dois fatores, o desenho da matriz de Doehlert consiste em um ponto central e outros seis pontos formando um hexágono regular (Figura 1.8A). Neste desenho, um fator deve ser avaliado em cinco níveis e o outro deve ser estudado em três níveis. A escolha dos fatores em relação aos níveis fica a critério do analista, mas uma regra geral é estudar os fatores que apresentem um forte efeito na resposta analítica no maior nível enquanto que os fatores com menor influência na resposta são estudados nos menores níveis (BEZERRA *et al.*, 2008; FERREIRA, 2015). Para três fatores, o desenho assume a forma de um sólido chamado cubo octaedro e, dependendo de como esse sólido é projetado em um plano, ele pode gerar diferentes matrizes, tais como: (a) projeção sobre uma face quadrada e (b) projeção sobre uma face triangular, conforme mostrado na Figura 1.8B (BEZERRA *et al.*, 2008; FERREIRA, 2015; FERREIRA, S., 2004; FERREIRA, S. L. C. *et al.*, 2007).

Figura 1.8 – Desenho estabelecido para a matriz de Doehlert com A) dois e B) três fatores. Em A) podem ser observadas diferentes possibilidades deslocando-se os pontos iniciais usando pontos prévios.



Fonte: Bezerra et al. (2008).

Em aplicações envolvendo D- μ SPE, muitas vezes o desafio envolve a otimização de misturas de solventes ou até mesmo misturas de sorventes com diferentes propriedades. Embora as técnicas de MSR possam ser utilizadas na otimização de misturas para extração de poluentes orgânicos diversos (SANTOS, A. G. *et al.*, 2016), a melhor alternativa para isso é o planejamento estatístico de misturas.

1.4.3 Planejamento de misturas

Nos planejamentos de MSR citados anteriormente, esperava-se uma variação na resposta quando os fatores eram mudados de nível. No caso de misturas, qualquer variação nos componentes leva a uma variação proporcional na resposta, ou seja, se as quantidades de todos os componentes de uma mistura for duplicada, então a resposta analítica dobrará (CANDIOTI *et al.*, 2014; HIBBERT, 2012).

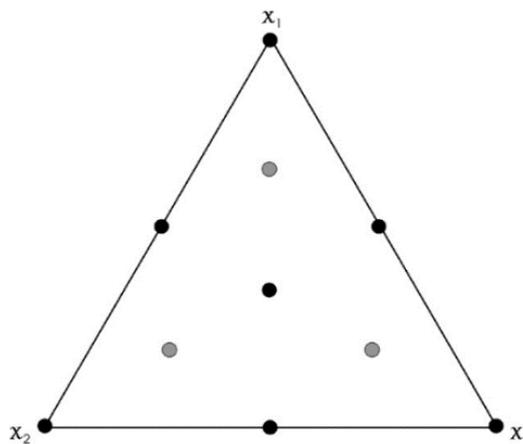
As proporções dos componentes de uma mistura não são independentes e a soma dos q componentes ou fatores devem obedecer a restrição imposta pela Eq. 1.8:

$$\sum_{i=1}^q x_i = 100\% = 1 \quad (1.8)$$

Onde x_i é a proporção do i -ésimo componente.

Os planejamentos de misturas com três componentes são os mais utilizados em procedimentos de otimização, no entanto, não é raro se observar planejamentos com quatro ou mais componentes. Para sistemas contendo três componentes, dois tipos de desenho podem ser utilizados: o planejamento em rede simplex (*simplex-lattice*) ou o planejamento *centroide-simplex*. Destes dois, o planejamento do tipo *centroide-simplex* tem a vantagem de fornecer maiores informações sobre interações ternárias entre os componentes de uma mistura (Figura 1.9).

Figura 1.9– Desenho esquemático de um planejamento de misturas com três componentes do tipo *centroide-simplex*.



Fonte: Ferreira, et al. (2007)

Para montar um planejamento de misturas *centroide-simplex* deve-se realizar três experimentos utilizando-se os componentes puros (vértices do triângulo), três experimentos com misturas binárias 1:1 entre eles (arestas do triângulo) e um experimento contendo misturas ternárias 1:1:1 dos três componentes em proporções iguais (centro do triângulo). Adicionalmente, pontos axiais podem ser adicionados e, neste caso, realiza-se três experimentos com a proporção de 2/3 de um dos ingredientes e 1/6 dos outros dois, como mostrado nos pontos de cor cinzas da Figura 1.9 (CANDIOTI *et al.*, 2014; FERREIRA, S. L. C. *et al.*, 2007). As réplicas dos pontos centrais do planejamento podem ser utilizadas para estimativas do erro experimental e validação dos modelos matemáticos através da Análise de Variância (ANOVA).

As características do desenho *centroide-simplex* (Figura 1.9) torna possível o ajuste sequencial de até quatro modelos matemáticos: i) o modelo linear, caso somente os termos lineares dos componentes puros sejam significativos; ii) o modelo quadrático, se os termos de interação binária forem significativos; iii) o modelo cúbico especial, caso os termos de interação da mistura ternária sejam significativos e iv) o modelo cúbico completo, que é uma ampliação do modelo cúbico especial, mas que exige a realização de experimentos adicionais para obtenção de mais graus de liberdade para o cálculo da falta de ajuste (CALADO; MONTGOMERY, 2003; CANDIOTI *et al.*, 2014).

1.4.4 Validação dos modelos matemáticos

Após a etapa de seleção do modelo matemático é necessário avaliar o grau de ajuste dele às respostas experimentais. Para isso, uma etapa de validação do modelo matemático deve ser realizada. Dentre as opções para validação de um modelo quadrático, destacam-se: a validação usando o método de regressão linear, a validação por meio do valor predito da resposta no ponto estacionário e a ANOVA (BEZERRA *et al.*, 2008; FERREIRA, 2015). No entanto, a ANOVA é o tipo de validação mais amplamente empregado na validação de modelos matemáticos obtidos pelas técnicas de planejamento de experimentos (BEZERRA *et al.*, 2008).

A ANOVA considera que a variação total da resposta ou soma quadrática total (SQ_T) é definida como a soma quadrática de dois componentes (BARROS NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2010): a soma quadrática da regressão (SQ_R) e a soma quadrática dos resíduos (SQ_r) (Eq. 1.9).

$$SQ_T = SQ_R + SQ_r \quad (1.9)$$

Conforme mostrado na Tabela 1.7, a SQ_R representa o desvio da previsão do modelo para uma resposta \hat{y}_i em um determinado nível i em relação a média global das respostas \bar{y} , com $p-1$ graus de liberdade. Por outro lado, a SQ_r é o somatório dos quadrados da diferença entre o valor obtido de uma resposta experimental y_{ij} e o valor

predito pelo modelo \hat{y}_i , com $n-p$ graus de liberdade. Em um modelo bem ajustado, a contribuição da parcela referente a SQ_r deve ser mínima, ou seja, a maior parte da variação deve ser explicada pelo modelo e não pelos resíduos. Se isto ocorre, pode-se afirmar que há uma boa concordância entre os valores preditos pelo modelo e os valores experimentais (BEZERRA *et al.*, 2008; TEÓFILO; FERREIRA, 2006).

Tabela 1.7– Parâmetros da ANOVA para validação de modelos matemáticos

Fonte de variação	Soma quadrática	Graus de liberdade	Média quadrática
Modelo	$SQ_R = \sum_i^m \sum_j^{n_i} (\hat{y}_i - \bar{y})^2$	$p-1$	$MQ_R = SQ_R / p - 1$
Resíduos	$SQ_r = \sum_i^m \sum_j^{n_i} (y_{ij} - \hat{y}_i)^2$	$n-p$	$MQ_r = SQ_r / n - p$
Falta de ajuste	$SQ_{faj} = \sum_i^m \sum_j^{n_i} (\hat{y}_i - \bar{y}_i)^2$	$m-p$	$MQ_{faj} = SQ_{faj} / m - p$
Erro puro	$SQ_{ep} = \sum_i^m \sum_j^{n_i} (y_{ij} - \bar{y}_i)^2$	$n-m$	$MQ_{ep} = SQ_{ep} / n - m$
Total	$SQ_T = \sum_i^m \sum_j^{n_i} (y_{ij} - \bar{y})^2$	$n-1$	

Fonte: Soares (2010). SQ_R = soma quadrática da regressão (modelo); SQ_r = soma quadrática dos resíduos; SQ_{faj} = soma quadrática da falta de ajuste; SQ_{ep} = soma quadrática do erro puro; SQ_T = soma quadrática total; \hat{y} = valor previsto pelo modelo; y_{ij} = i-ésima resposta obtida para o i-ésimo ensaio; \bar{y} = média global das respostas; \bar{y}_i = média das respostas no nível i; p = número de parâmetros do modelo ajustado; m = número de níveis distintos dos fatores; n = número total de observações.

A SQ_r deixada pelo modelo pode ser decomposta em duas partes: a parcela referente aos erros aleatórios (SQ_{ep}) e a outra devido a falta de ajuste do modelo (SQ_{faj}), conforme expresso pela Eq. 1.10 (BARROS NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2010).

$$SQ_r = SQ_{ep} + SQ_{faj} \quad (1.10)$$

A SQ_{ep} é a soma dos quadrados da diferença entre a resposta experimental y_{ij} em um nível i obtida para o i-ésimo ensaio j e a média das respostas \bar{y}_i neste mesmo nível y_{ij} . Este somatório refere-se apenas a dispersão das respostas em relação ao valor médio e não tem relação com o modelo. A SQ_{faj} se refere a soma dos quadrados

da diferença entre os valores preditos pelo modelo para uma resposta em um determinado nível \hat{y}_i e a média das respostas neste nível \bar{y}_i e, ao contrário da SQ_{ep} , depende do modelo. Quanto maior os desvios das estimativas feitas pelo modelo \bar{y}_i maior será a contribuição da falta de ajuste para a SQ_r (BARROS NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2010; TEÓFILO; FERREIRA, 2006).

Se os resíduos deixados pelo modelo são baixos e apresentam comportamento aleatório, então ele pode ser submetido a um teste F (95 % confiança) para avaliar a sua significância bem como a significância da falta de ajuste. Para isso, é necessário obter as médias quadráticas (MQ) de cada parâmetro da ANOVA, as quais são obtidas dividindo-se a soma quadrática de cada parâmetro pelos seus respectivos graus de liberdade (Tabela 1.7). Assume-se que um modelo está bem ajustado quando a razão MQ_R/MQ_r é inferior ao valor de F crítico (tabelado) para $p-1$ e $n-p$ graus de liberdade, ao mesmo tempo que não haverá evidência de significância de falta de ajuste do modelo se a razão $MQ_{faj}/MQ_{ep} < F$ crítico para $m-p$ e $n-m$ graus de liberdade.

Após a validação do modelo matemático é necessário determinar as coordenadas dos pontos críticos de modo a obter as condições experimentais ótimas ou ponto ótimo. Em um modelo matemático simples como o modelo linear, a superfície gerada indica somente a direção onde se deve deslocar o domínio experimental, caso não haja uma curvatura no plano (BEZERRA *et al.*, 2008). Em contrapartida, em um modelo quadrático é possível obter os pontos críticos, que podem ser de máximo, mínimo ou sela. A natureza destes pontos é determinada aplicando-se o critério de Lagrange (FERREIRA, 2015; FERREIRA, S., 2004). Após determinar se a superfície obtida apresenta um ponto estacionário de máximo, mínimo ou de sela, obtem-se as coordenadas dos pontos críticos através das derivadas parciais do modelo quadrático (Eq. 1.11), seguida da resolução de um sistema de equações (Eq. 1.12 e Eq. 1.13), conforme ilustrado no exemplo abaixo para um modelo quadrático com dois fatores (BEZERRA *et al.*, 2008):

$$\hat{y} = b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + b_{12}x_1x_2 + b_{21}x_1x_2 + b_{11}x_1^2 + b_{22}x_2^2 + \varepsilon \quad (1.11)$$

$$\frac{\delta y}{\delta x_1} = b_1 + 2b_{12}x_2 + b_{11}x_1 = 0 \quad (1.12)$$

$$\frac{\delta y}{\delta x_2} = b_2 + 2b_{21}x_1 + b_{22}x_2 = 0 \quad (1.13)$$

Conforme discutido nessa seção, as respostas experimentais desempenham um papel fundamental na etapa de otimização multivariada dos fatores que afetam a D- μ -SPE. Para fornecer respostas experimentais adequadas, a escolha da técnica de análise instrumental é de grande importância. Dentre as principais técnicas utilizadas para determinação de poluentes orgânicos, a cromatografia é a mais amplamente utilizada.

1.5 Técnicas cromatográficas aplicadas na determinação de poluentes orgânicos

Embora o emprego de técnicas instrumentais não-cromatográficas como espectrometria de mobilidade iônica (IMS) (GALLART-MATEU; ARMENTA; DE LA GUARDIA, 2016) e espectroscopia infravermelho com transformada de Fourier de caminho aberto (OP-FTIR) (KIRA; LINKER; DUBOWSKI, 2016) tenham sido empregadas para determinação de poluentes orgânicos em matrizes ambientais diversas, as técnicas cromatográficas ainda são a primeira escolha para esta finalidade. Devido aos diferentes tipos de grupos químicos que caracterizam os diversos agrotóxicos usados na agricultura moderna bem como as diferentes propriedades físico-químicas dos compostos policíclicos aromáticos, é necessário escolher a técnica cromatográfica mais adequada para determinar o maior número possível de compostos. As técnicas mais utilizadas para este fim são a cromatografia em fase gasosa (GC) e a cromatografia a líquido (LC) (ANGELES 2020; NASCIMENTO; DA ROCHA; DE ANDRADE, 2018).

A LC tem sido amplamente empregada na separação de substâncias polares, termicamente instáveis e não voláteis, como por exemplo, alguns herbicidas e inseticidas empregados na agricultura moderna (SALISAENG *et al.*, 2016). Apesar da

maioria dos compostos policíclicos aromáticos serem preferencialmente analisados por GC, muitos trabalhos tem reportado o uso da LC na separação e quantificação destes compostos, principalmente com detectores de fluorescência molecular (CAETANO *et al.*, 2019; HAYES *et al.*, 2018; TIMOFEEVA; STEPANOVA; BULATOV, 2021). Em comparação com a GC, a LC apresenta algumas vantagens como eliminação de etapas de derivatização, aumento da quantidade de compostos analisáveis e redução significativa do tempo total de corrida cromatográfica (DODDS *et al.*, 2021; PÉREZ-FERNÁNDEZ *et al.*, 2017).

Por outro lado, a GC tem sido empregada na determinação de agrotóxicos termicamente estáveis e semivoláteis e compostos policíclicos aromáticos e seus derivados. As separações são conduzidas preferencialmente em colunas capilares com fase estacionária apolar composta por 5% de difenil, 95% de dimetilpolissiloxano com espessura de filme variando de 0,1 a 0,4 μm e diâmetro interno de 0,25 mm. As colunas de 30 metros são o comprimento de coluna mais utilizado, embora alguns autores tenham relatado o uso de colunas de 60 m como forma de melhorar a separação cromatográfica (BERISTAIN-MONTIEL *et al.*, 2016, 2020; TOMINAGA *et al.*, 2016). Os cromatógrafos a gás equipados com detector de captura de elétrons (CG-DCE) exibem elevada seletividade e sensibilidade para compostos halógenos (KIRK; LAST; ZIMMERMANN, 2017; POOLE, 2015; RASHIDI NODEH *et al.*, 2017). Assim, esses detectores são frequentemente empregados na determinação de agrotóxicos organoclorados (como por exemplo, α -HCH, β -HCH, γ -HCH, δ -HCH, heptacloro, aldrin, dieldrin, heptacloro-epóxido, isômeros do endosulfan, 4,4'-DDT e metabólitos, endrin e metabólitos e metoxicloro) (CINDORUK, 2011; DEVI *et al.*, 2011; SILVA-BARNI *et al.*, 2018; YENISOY-KARAKAŞ; GAGA, 2013). Apesar de sua elevada sensibilidade e seletividade para organoclorados, os detectores do tipo ECD são incapazes de se aproximar da identificação inequívoca de substâncias. Assim, torna-se necessário o uso de uma técnica auxiliar como a cromatografia a gás acoplada à espectrometria de massa (GC-MS) para confirmar a identidade de uma determinada substância (KIRK; LAST; ZIMMERMANN, 2017; POOLE, 2015).

Os sistemas GC-MS possuem analisadores de massa do tipo quadrupolo, que se destacam devido a simplicidade, baixo custo e relativa facilidade de operação, além de fornecer informações espectrais (HERNÁNDEZ *et al.*, 2013; HERNÁNDEZ *et al.*, 2011). O GC-MS com fonte de íons de ionização por elétrons (EI) tem sido

amplamente utilizado devido à possibilidade de identificar e confirmar a identidade de um determinado composto, comparando o espectro de massa no modo de varredura (Full Scan) com as bibliotecas NIST ou Wiley, entre outras possibilidades. Porém, devido à baixa sensibilidade quando o quadrupolo trabalha em varredura completa, o modo de monitoramento de íons selecionados (SIM) é frequentemente utilizado para melhorar a sensibilidade e a seletividade na análise quantitativa (CHERTA *et al.*, 2015; HERNÁNDEZ, F. *et al.*, 2013) o que geralmente resulta em limites de detecção mais baixos.

Embora o GC-MS equipado com uma fonte de ionização por elétrons forneça informações estruturais completas sobre as moléculas do analito, é difícil obter informações sobre a massa molecular do composto analisado devido à fragmentação extensiva provocada por este tipo de fonte de ionização (HERNÁNDEZ *et al.*, 2013; LANÇAS, 2013). Isso ocorre porque o íon molecular (M+) nem sempre é formado durante a ionização na fonte de íons. Uma alternativa é o uso de fontes de ionização química (CI) que proporcionam uma ionização mais branda e, portanto, causam pouca fragmentação, resultando em uma distinção estrutural mais fácil entre moléculas com padrões de fragmentação semelhantes (LANÇAS, 2009). Assim, é possível determinar a massa molar do composto, uma vez que o M+ é facilmente formado (LANÇAS, 2013). Beristain-Montiel *et al.* (2016) por exemplo, usaram GC-MS com fonte de ionização química iônica negativa (NCI/SIM) para determinação de 16 agrotóxicos organoclorados. Da mesma forma, Li *et al.* (2016) determinaram as concentrações de quatro piretróides (aletrina, cipermetrina, dimeflurina e tetrametrina) empregando GC-MS no modo de ionização química negativa.

A seletividade e a sensibilidade podem ser aumentadas quando o GC acoplado a um espectrômetro de massa do tipo triplo-quadrupolo (GC-MS/MS) é utilizado. Este sistema emprega dois quadrupolos em série e uma célula de colisão com um gás inerte (HERNÁNDEZ *et al.*, 2013; LANÇAS, 2013). Os íons de uma substância produzida na fonte de íons são isolados no primeiro quadrupolo. Posteriormente, esses íons são fragmentados na célula de colisão e os íons filhos resultantes são separados no segundo quadrupolo de acordo com suas razões m/z (CHIARADIA; COLLINS; JARDIM, 2008). Desta forma, apenas os íons filhos de um íon pai pré-selecionado chegarão ao detector. Isso torna essa técnica altamente sensível e seletiva, reduzindo significativamente a possibilidade de identificação inequívoca de

uma determinada substância. Devido a essa vantagem, o uso da GC-MS/MS na análise de poluentes orgânicos persistentes cresceu significativamente (HERNÁNDEZ et al., 2013).

Os analisadores de massa de quadrupolo simples têm baixo poder de resolução ($R_s = 1000$). Isso significa que o analisador de massas pode distinguir diferentes massas até 1 a.m.u (XIAN; HENDRICKSON; MARSHALL, 2012). Devido a essas limitações, o uso de espectrômetros de massa de alta resolução (HRMS) cresceu significativamente. Com o uso do GC acoplado HRMS é possível obter valores de resolução de até 10.000 (LANÇAS 2013; XIAN; HENDRICKSON; MARSHALL, 2012). Isso permite utilizar métodos de triagem para detecção, identificação e quantificação de uma grande quantidade de poluentes orgânicos persistentes, combinando elevada sensibilidade com alta resolução. No entanto, deve-se salientar que os espectrômetros de alta resolução são caros e seu funcionamento é complexo, exigindo analistas treinados.

1.6 REFERÊNCIAS

- ABRAHAM, J.; SILAMBARASAN, S.; LOGESWARI, P. Simultaneous degradation of organophosphorus and organochlorine pesticides by bacterial consortium. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**, v. 45, n. 5, p. 2590–2596, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jtice.2014.06.014>>.
- ACHTEN, C.; ANDERSSON, J. T. Overview of Polycyclic Aromatic Compounds (PAC). **Polycyclic Aromatic Compounds**, v. 35, n. 2–4, p. 177–186, 2015.
- AHAD, J. M. E. et al. Polycyclic aromatic compounds (PACs) in the Canadian environment: A review of sampling techniques, strategies and instrumentation. **Environmental Pollution**, v. 266, p. 114988, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.114988>>.
- AKASHE, M. M. Classification of pesticides: A review. **International Journal of Research**, v. 9, n. 4, p. 144–150, 2018.
- Alharbi et al. Health and environmental effects of persistent organic pollutants, **Journal of Molecular Líquids**, 263, 442-453, 2018.
- AMÉZQUETA, S. et al. Octanol-Water Partition Constant. In: POOLE, C. F. (Org.) **Liquid-Phase Extraction**. Amsterdã: Elsevier, 2020. p. 1419. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128169117000062>>.
- AMIRI, A. et al. Synthesis of a zinc-based metal-organic framework with histamine as an organic linker for the dispersive solid-phase extraction of organophosphorus pesticides in water and fruit juice samples. **Journal of Chromatography A**, v. 1597, p. 39–45, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2019.03.039>>.
- ANASTASSIADES, M. et al. Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and “dispersive solid-phase extraction” for the determination of pesticide residues in produce. **Journal of AOAC International**, v. 86, n. 2, p. 412–431, 2003.
- ANGELES, L. F.; AGA, D. S. Catching the elusive persistent and mobile organic compounds: Novel sample preparation and advanced analytical techniques. **Trends in Environmental Analytical Chemistry**, v. 25, p. e00078, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.teac.2019.e00078>>.
- ANVISA. **Monografias autorizadas**. Disponível em: <<https://www.gov.br/anvisa/pt-br>>. Acesso em: 25 nov. 2020.
- ASFARAM, A. et al. Magnetic Cu : CuO-GO nanocomposite for efficient dispersive micro-solid phase extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons from vegetable, fruit, and environmental water samples by liquid chromatographic determination. **Talanta**, v. 218, n. May, p. 121131, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2020.121131>>.
- AZIZI, A.; SHAHHOSEINI, F.; BOTTARO, C. S. Magnetic molecularly imprinted polymers prepared by reversible addition fragmentation chain transfer polymerization

for dispersive solid phase extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons in water. **Journal of Chromatography A**, v. 1610, p. 460534, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2019.460534>>.

BAEK, S.; CHOI, S.; CHANG, Y. Three-Year Atmospheric Monitoring of Organochlorine Pesticides and Polychlorinated Biphenyls in Polar Regions and the South Pacific. **Environmental Science & Technology**, v. 45, p. 4475–4482, 2011.

BANDALA, E. et al. Removal of aldrin, dieldrin, heptachlor, and heptachlor epoxide using activated carbon and/or *Pseudomonas fluorescens* free cell cultures. **Journal of Environmental Science and Health - Part B Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes**, v. 41, n. 5, p. 553–569, 2006.

BANDOWE, B. A. M.; MEUSEL, H. Nitrated polycyclic aromatic hydrocarbons (nitro-PAHs) in the environment – A review. **Science of the Total Environment**, v. 581–582, p. 237–257, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.12.115>>.

BARROS NETO, B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Como Fazer Experimentos: Pesquisa e desenvolvimento na Ciência e na Indústria**. 4. ed. Porto Alegre: Bookman, 2010.

BERISTAIN-MONTIEL, E. et al. An innovative ultrasound assisted extraction micro-scale cell combined with gas chromatography/mass spectrometry in negative chemical ionization to determine persistent organic pollutants in air particulate matter. **Journal of Chromatography A**, v. 1477, p. 100–107, 2016.

BERISTAIN-MONTIEL, E. et al. Polybrominated diphenyl ethers and organochloride pesticides in the organic matter of air suspended particles in Mexico valley: A diagnostic to evaluate public policies. **Environmental Pollution**, v. 267, 2020.

BEZERRA, M. A. et al. Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry. **Talanta**, v. 76, n. 5, p. 965–977, 2008.

BIGLEY, A. N.; RAUSHEL, F. M. Catalytic mechanisms for phosphotriesterases. **Biochimica et Biophysica Acta - Proteins and Proteomics**, v. 1834, n. 1, p. 443–453, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.bbapap.2012.04.004>>.

BORGES, E. M.; GORAIEB, K.; COLLINS, C. H. O desafio de analisar solutos básicos por cromatografia líquida em modo reverso: algumas alternativas para melhorar as separações. **Química Nova**, v. 35, n. 5, p. 993–1003, 2012.

BRASIL. **Relatório Nacional de Vigilância em Saúde de Populações Expostas a Agrotóxicos (2018)**. Disponível em: <https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/relatorio_nacional_vigilancia_populacoes_expostas_agrotoxicos.pdf>.

BUSZEWSKI, B.; SZULTKA, M. Past, Present, and Future of Solid Phase Extraction: A Review. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, v. 42, n. 3, p. 198–213, 2012.

CAETANO, V. C. L. B. et al. Magnetic hybrid support for ultrasound-assisted magnetic solid-phase extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons from produced

water. **Microchemical Journal**, v. 146, p. 1195–1203, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.microc.2019.02.055>>.

CALADO, V.; MONTGOMERY, D. C. **Planejamento de experimentos usando o Statistica**. Rio de Janeiro: e-papers Serviços Editoriais, 2003.

CANDIOTI, L. V. et al. Experimental design and multiple response optimization. Using the desirability function in analytical methods development. **Talanta**, v. 124, p. 123–138, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2014.01.034>>.

CARNEIRO, F. F. et al. **Dossiê ABRASCO: um alerta sobre os impactos dos agrotóxicos na saúde**. 2015. Disponível em: <http://www.abrasco.org.br/site/wp-content/uploads/2015/03/Dossie_Abrasco_02.pdf><http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9788445820667000033>>.

CASADO, J.; SANTILLO, D.; JOHNSTON, P. Multi-residue analysis of pesticides in surface water by liquid chromatography quadrupole-Orbitrap high resolution tandem mass spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 1024, p. 1–17, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.aca.2018.04.026>>.

CETESB. **Qualidade do ar. Poluentes orgânicos**. Disponível em: <<https://cetesb.sp.gov.br/centroregional/a-convencao/poluentes-organicos-persistentes-pops/>>. Acesso em: 5 abr. 2021.

CHEMSPIDER. Royal Society of Chemistry. **Experimental Physico-chemical Properties**, <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.906.html?rid=83918794-54b2-45c6-9ce1-6833d510e3db>> Acessado em: 17 Jan. 2021.

CHEREMISINOFF, N. P.; ROSENFELD, P. E. **Handbook of Pollution Prevention and Cleaner Production: Best Practices in the Agrochemical Industry**. Amsterdã: Elsevier, 2011.

CHERTA, L. et al. Analytical strategy based on the combination of gas chromatography coupled to time-of-flight and hybrid quadrupole time-of-flight mass analyzers for non-target analysis in food packaging. **Food Chemistry**, v. 188, p. 301–308, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.04.141>>.

CHIARADIA, M. C.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F. The state of the art of chromatography associated with the tandem mass spectrometry for toxic compound analyses in food. **Química Nova**, v. 31, n. 3, p. 623–636, 2008.

CHISVERT, A.; CÁRDENAS, S.; LUCENA, R. Dispersive micro-solid phase extraction. **TrAC-Trends in Analytical Chemistry**. v. 112, p. 226–233, 2019.

CINDORUK, S. S. Atmospheric organochlorine pesticide (OCP) levels in a metropolitan city in Turkey. **Chemosphere**, v. 82, n. 1, p. 78–87, 2011.

CLIMENT, M. J. et al. Residues of pesticides and some metabolites in dissolved and particulate phase in surface stream water of Cachapoal River basin, central Chile. **Environmental Pollution**, v. 251, p. 90–101, 2019.

COCHRAN, R. E. et al. Identification of products formed during the heterogeneous nitration and ozonation of polycyclic aromatic hydrocarbons. **Atmospheric Environment**, v. 128, p. 92–103, 2016.

CORREIA, M. et al. **Fungicides**. In: CABALERO, B.; FINGLAS, P. M.; TOLDRÁ, F. (Org.). The Encyclopedia of Food and Health. Cambridge:Academic Press, 2016. p. 4006.

COSCOLLÀ, C.; YUSÀ, V. Pesticides and Agricultural Air Quality. **Comprehensive Analytical Chemistry**, v. 73, p. 423–490, 2016.

CUNHA, V. et al. Mixture effects of oxygenated PAHs and benzo [a] pyrene on cardiovascular development and function in zebra fish embryos. **Environment International**, v. 143, p. 105913, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.envint.2020.105913>>.

DOEHLERT, D. H. Uniform Shell Design. **Applied Statistics**, v. 19, p. 231-239, 1970.

DELLA-FLORA, A. et al. Comprehensive investigation of pesticides in Brazilian surface water by high resolution mass spectrometry screening and gas chromatography – mass spectrometry quantitative analysis. **Science of the Total Environment**, v. 669, p. 248–257, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.02.354>>.

DEVI, N. L. et al. Passive air sampling of organochlorine pesticides in a northeastern state of India, Manipur. **Journal of Environmental Sciences**, v. 23, n. 5, p. 808–815, 2011. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/S1001-0742\(10\)60453-6](http://dx.doi.org/10.1016/S1001-0742(10)60453-6)>.

DIAS, N. C.; POOLE, C. F. Mechanistic study of the sorption properties of Oasis® HLB and its use in solid-phase extraction. **Chromatographia**, v. 56, p. 269–275, 2002.

DIMASHKI, M.; HARRAD, S.; HARRISON, R. M. Measurements of nitro-PAH in the atmospheres of two cities. **Atmospheric Environment**, v. 34, n. 15, p. 2459–2469, 2000.

DODDS, J. N. et al. From Pesticides to Per- and Polyfluoroalkyl Substances: An Evaluation of Recent Targeted and Untargeted Mass Spectrometry Methods for Xenobiotics. **Analytical Chemistry**, v. 93, p. 641–656, 2021.

EMBRAPA. **Soja em números (safra 2019/20)**. Disponível em:< <https://www.embrapa.br/soja/cultivos/soja1/dados-economicos>>. Acesso em: 10 Fev. 2021.

EPA. Method 610: **Polynuclear aromatic hydrocarbons**. Disponível em: <https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-10/documents/method_610_1984.pdf>. Acesso em: 10 jun. 2020.

EPA, U. S. E. P. A. **Organochlorine Pesticides by Gas chromatographic**. Method 8081B (2007). Disponível em: <<https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-12/documents/8081b.pdf>>. Acesso em: 29 out. 2020.

FAOSTAT. **Pesticides Trade**. Disponível em:

<<http://www.fao.org/faostat/en/#data/RT/visualize>>. Acesso em: 10 Dez. 2020.

FARAJZADEH, M. A.; YADEGHARI, A.; KHOSH MARAM, L. Magnetic solid phase extraction using Fe₃O₄@SiO₂@C₈ nanoparticles performed in a narrow-bore tube followed by dispersive liquid-liquid microextraction for extraction and preconcentration of nine pesticides. **New Journal of Chemistry**, v. 42, p. 6215–6224, 2018. Disponível em: <<http://xlink.rsc.org/?DOI=C8NJ00501J>>.

FARAJZADEH, MIR ALI et al. Dispersive liquid-liquid microextraction using extraction solvent lighter than water. **Journal of Separation Science**, v. 32, n. 18, p. 3191–3200, 2009.

FARAJZADEH, MIR ALI; YADEGHARI, A.; KHOSH MARAM, L. Combination of dispersive solid phase extraction and dispersive liquid-liquid microextraction for extraction of some aryloxy pesticides prior to their determination by gas chromatography. **Microchemical Journal**, v. 131, p. 182–191, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.microc.2016.12.013>>.

FARRELL, C. E. O.; WAGHORNE, W. E. Henry ' s Law Constants of Organic Compounds in Water and n-Octane at T =293.2 K. **Journal of Chemical & Engineering Data**, v. 55, p. 1655–1658, 2010.

FERREIRA, S. L. C. **Introdução às técnicas de planejamento de experimentos**. 1 ed. Salvador: Vento Leste, 2015.

FERREIRA, S. L. C. Doehlert matrix: a chemometric tool for analytical chemistry - review. **Talanta**, v. 63, n. 4, p. 1061–1067, 2004. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0039914004000384>>.

FERREIRA, S. L. C. et al. Statistical designs and response surface techniques for the optimization of chromatographic systems. **Journal of Chromatography A**, v. 1158, n. 1–2, p. 2–14, 2007. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021967307005298>>.

FINLAYSON-PITTS, B. J.; PITTS, J. N. **Chemistry of the Upper and Lower Atmosphere**. San Diego: ACADEMIC PRESS, 2000.

FOCUS. **Pesticides in Air: Considerations for Exposure Assessment. Report of the FOCUS Working Group on Pesticides in Air (FOCUS Air Group)**, n. SANCO/10553/2006 Rev 2 June 2008, p. 327, 2008. Disponível em: <http://focus.jrc.ec.europa.eu/ai/docs/FOCUS_AIR_GROUP_REPORT-FINAL.pdf>.

FUKUTO, T. R. Mechanism of action of organophosphorus and carbamate insecticides. **Environmental Health Perspectives**, v. 87, p. 245–254, 1990.

GALLART-MATEU, D.; ARMENTA, S.; DE LA GUARDIA, M. Indoor and outdoor determination of pesticides in air by ion mobility spectrometry. **Talanta**, v. 161, p. 632–639, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2016.09.020>>.

GARCÍA-VALVERDE, M. T. et al. In-syringe dispersive micro-solid phase extraction using carbon fibres for the determination of chlorophenols in human urine by gas

chromatography/mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1464, p. 42–49, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2016.08.036>>.

GOLDFARB, J.; SUUBERG, E. Vapor Pressures and Thermodynamics of Oxygen-Containing Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Measured Using Knudsen Effusion. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 27, n. 6, p. 1–14, 2008.

GOULART, A. C. P. **Fungicidas inibidores da síntese do ergosterol**. In: LUZ, W. C. et al. (Org.). Revisão Anual de Patologia de Plantas. 3 ed. Brasília: RAPP, 1995. p. 365.

GUIÑEZ, M. et al. Determination of nitrated and oxygenated polycyclic aromatic hydrocarbons in water samples by a liquid–liquid phase microextraction procedure based on the solidification of a floating organic drop followed by solvent assisted back-extraction and liquid chromatography–tandem mass spectrometry. **Microchemical Journal**, v. 139, p. 164–173, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.microc.2018.02.027>>.

GUO, L.; CHIA, S. H.; LEE, H. K. Automated Agitation-Assisted Demulsification Dispersive Liquid-Liquid Microextraction. **Analytical Chemistry**, v. 88, n. 5, p. 2548–2552, 2016.

GUPTA, R. C. **Carbamate Pesticides**. 3d. Amsterdã:Elsevier, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-386454-3.00106-8>>.

HAN, Q. et al. In-syringe solid-phase extraction for on-site sampling of pyrethroids in environmental water samples. **Analytica Chimica Acta**, v. 1009, p. 48–55, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.aca.2018.01.001>>.

HASSAAN, M. A.; NEMR, A. EL. Pesticides pollution: Classifications, human health impact, extraction and treatment techniques. **The Egyptian Journal of Aquatic Research**, v. 46, n. 3, p. 207–220, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ejar.2020.08.007>>.

HAYES, H. V. et al. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons with molecular mass 302 in standard reference material 1597a by reversed-phase liquid chromatography and stop-flow fluorescence detection. **Analytical Methods**, v. 10, n. 23, p. 2668–2675, 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1039/C8AY00760H>>.

HERNÁNDEZ, F. et al. The role of GC-MS/MS with triple quadrupole in pesticide residue analysis in food and the environment. **Analytical Methods**, v. 5, n. 21, p. 5875, 2013. Disponível em: <<http://xlink.rsc.org/?DOI=c3ay41104d>>.

HERNÁNDEZ, F. et al. Gas chromatography coupled to high-resolution time-of-flight mass spectrometry to analyze trace-level organic compounds in the environment, food safety and toxicology. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 30, n. 2, p. 388–400, 2011.

HIBBERT, D. B. Experimental design in chromatography: A tutorial review. **Journal of Chromatography B**, v. 910, p. 2–13, 2012. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1570023212000505>>.

HOEKSTRA, P. F. et al. Enantiomer-specific activity of o,p'-DDT with the human estrogen receptor. **Toxicology Letters**, v. 125, n. 1–3, p. 75–81, 2001.

HUANG, Z.; KEE, H. Micro-solid-phase extraction of organochlorine pesticides using porous metal-organic framework MIL-101 as sorbent. **Journal of Chromatography A**, v. 1401, p. 9–16, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2015.04.052>>.

HUSSEIN, I.; ABDEL-SHAFY; MANSOUR, M. S. M. A review on polycyclic aromatic hydrocarbons: Source, environmental impact, effect on human health and remediation. **Egyptian Journal of Petroleum**, v. 25, n. 1, p. 107–123, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ejpe.2015.03.011>>.

LI, H.; LYDY, M. J.; YOU, J. Pyrethroids in indoor air during application of various mosquito repellents: Occurrence, dissipation and potential exposure risk. **Chemosphere**, v. 144, p. 2427–2435, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.11.025>>.

LIN, T. et al. Organochlorine pesticides in seawater and the surrounding atmosphere of the marginal seas of China: Spatial distribution, sources and air-water exchange. **Science of the Total Environment**, v. 435–436, p. 244–252, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.07.028>>.

IARC. **Diesel and Gasoline Engine Exhausts and Some Nitroarenes**. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks To Humans. Disponível em: <<https://publications.iarc.fr/Book-And-Report-Series/Iarc-Monographs-On-The-Identification-Of-Carcinogenic-Hazards-To-Humans/Diesel-And-Gasoline-Engine-Exhausts-And-Some-Nitroarenes-2013>>. Acesso em: 22 Fev. 2021.

IARC. **IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans**. Disponível em: <<file:///C:/Users/Madson/Documents/Doutorado UFBA/Artigos tese/Artigos PACs Tese/monografia IARC.pdf>>. Acesso em: 22 Fev. 2021.

IBAMA. **Boletins anuais de produção, importação, exportação e vendas de agrotóxicos no Brasil. Boletim de 2019**. Disponível em: <https://www.ibama.gov.br/index.php?option=com_content&view=article&id=594&Itemid=54>. Acesso em: 3 jan. 2021.

IBGE. **Censo Agropecuário 2017**. Disponível em: <https://censos.ibge.gov.br/agro/2017/templates/censo_agro/resultadosagro/agricultura.html>. Acesso em: 5 jan. 2020.

IBGE, I. B. DE G. E E.-. **Levantamento sistemático da produção agrícola**. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/estatisticas/economicas/agricultura-e-pecuaria/9201-levantamento-sistematico-da-producao-agricola.html?=&t=destaques>>. Acesso em: 30 dez. 2020.

IUPAC. **Global availability of information on agrochemicals**. Disponível em: <<https://sitem.herts.ac.uk/aeru/iupac/Reports/21.htm>>. Acesso: 30 dez. 2020.

IYENGAR, A. R. S.; PANDE, A. H. Organophosphate-Hydrolyzing Enzymes as First-Line of Defence Against Nerve Agent-Poisoning: Perspectives and the Road Ahead. **Protein Journal**, v. 35, n. 6, p. 424–439, 2016.

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

JIANG, X.; SZE, Y. O.; HIAN, K. L. Dynamic liquid-liquid-liquid microextraction with automated movement of the acceptor phase. **Analytical Chemistry**, v. 77, n. 6, p. 1689–1695, 2005.

JØRGEN STENERSEN. **Chemical Pesticides: Mode of Action and Toxicology**. New York: CRC Press, 2004.

KAMRAN, M. et al. Highly efficient porous sorbent derived from asphalt for the solid-phase extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons. **Journal of Chromatography A**, v. 1631, p. 461559, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2020.461559>>.

KHEZELI, T.; DANESHFAR, A. Development of dispersive micro-solid phase extraction based on micro and nano sorbents. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 89, p. 99–118, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.trac.2017.01.004>>.

KIRA, O.; LINKER, R.; DUBOWSKI, Y. Estimating drift of airborne pesticides during orchard spraying using active Open Path FTIR. **Atmospheric Environment**, v. 142, p. 264–270, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.atmosenv.2016.07.056>>.

KIRK, A. T.; LAST, T.; ZIMMERMANN, S. A sensitive gas chromatography detector based on atmospheric pressure chemical ionization by a dielectric barrier discharge. **Journal of Chromatography A**, v. 1483, p. 120–126, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2016.12.071>>.

KNECHT, A. L. et al. Comparative developmental toxicity of environmentally relevant oxygenated PAHs. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 271, n. 2, p. 266–275, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.taap.2013.05.006>>.

KOCÚROVÁ, L. et al. Recent advances in dispersive liquid-liquid microextraction using organic solvents lighter than water. A review. **Microchemical Journal**, v. 102, p. 11–17, 2012.

KONG, J. et al. Nitrated and parent PAHs in the surface water of Lake Taihu, China: Occurrence, distribution, source, and human health risk assessment. **Journal of Environmental Sciences (China)**, v. 102, p. 159–169, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jes.2020.09.025>>.

LANÇAS, F. M. A Cromatografia Líquida Moderna e a Espectrometria de Massas: finalmente “ compatíveis ”? **Scientia Chromatographica**, v. 1, n. 1, p. 35–61, 2009.

LANÇAS, F. M. A cromatografia líquida moderna e a espectrometria de massas: Finalmente “compatíveis”? II. A escolha do analisador de massas. **Scientia Chromatographica**, v. 5, p. 27–46, 2013.

LI, D.; YUN, Y.; GAO, R. Oxygenated Polycyclic aromatic hydrocarbons (Oxy-PAHs) facilitate lung cancer metastasis by epigenetically regulating the epithelial-to-mesenchymal transition (EMT)*. **Environmental Pollution**, v. 255, p. 113261, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113261>>.

LIMA, A. L. C.; FARRINGTON, J. W.; REDDY, C. M. Combustion-derived polycyclic aromatic hydrocarbons in the environment - A review. **Environmental Forensics**, v. 6, n. 2, p. 109–131, 2005.

LIU, A. et al. Quantification of Trace Organophosphorus Pesticides in Environmental Water via Enrichment by Magnetic-Zirconia Nanocomposites and Online Extractive Electrospray Ionization Mass Spectrometry. **Analytical Chemistry**, v. 92, n. 5, p. 4137–4145, 2020.

LÓPEZ-PACHECO, I. Y. et al. Anthropogenic contaminants of high concern : Existence in water resources and their adverse effects. **Science of the Total Environment**, v. 690, p. 1068–1088, 2019.

LÓPEZ, A.; COSCOLLÀ, C.; YUSÀ, V. Evaluation of sampling adsorbents and validation of a LC-HRMS method for determination of 28 airborne pesticides. **Talanta**, v. 189, n. February, p. 211–219, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2018.06.078>>.

LÓPEZ, A.; COSCOLLÀ, C.; YUSÀ, V. Selection of sampling adsorbents and optimisation and validation of a GC-MS/MS method for airborne pesticides. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, v. 97, n. 10, p. 949–964, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/03067319.2017.1373771>>.

LUNDSTEDT, S. et al. Sources, Fate, and Toxic Hazards of Oxygenated Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) at Sources, Oxygenated Hydrocarbons contaminated Fate , and Toxic Polycyclic (PAHs) Sites Hazards Aromatic at PAH. **Ambio**, v. 36, n. 6, p. 475–485, 2007.

MARCÉ, R. .; BORRULL, F. Solid-phase extraction of polycyclic aromatic compounds. **Journal of Chromatography A**, v. 885, n. 1–2, p. 273–290, 2000. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021967300004283>>.

MENG, Y. et al. A review on occurrence and risk of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in lakes of China. **Science of the Total Environment**, v. 651, p. 2497–2506, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.10.162>>.

MIKI, S. et al. Distributions of polycyclic aromatic hydrocarbons and alkylated polycyclic aromatic hydrocarbons in Osaka Bay , Japan. **Marine Pollution Bulletin**, v. 85, n. 2, p. 558–565, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.marpolbul.2014.04.004>>.

MITRA, S. **Sample Preparation Techniques in Analytical Chemistry**. New Jersey: Wiley-Interscience, 2003.

MOIDOVEANU, S. C.; DAVID, V. **Sample Preparation in Chromatography**. 1 ed. Amsterdã: Elsevier Science, 2002. v. 65. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0301477002800112>>.

MONKS, T. J. et al. Quinone Chemistry and Toxicity. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 112, p. 2–16, 1992.

MONTIEL-LEÓN, J. M. et al. Widespread occurrence and spatial distribution of glyphosate, atrazine, and neonicotinoids pesticides in the St. Lawrence and tributary rivers. **Environmental Pollution**, v. 250, p. 29–39, 2019.

MOSTERT, M. M. R.; AYOKO, G. A.; KOKOT, S. Application of chemometrics to analysis of soil pollutants. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 29, n. 5, p. 430–445, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.trac.2010.02.009>>.

MREMA, E. J. et al. Persistent organochlorinated pesticides and mechanisms of their toxicity. **Toxicology**, v. 307, p. 74–88, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.tox.2012.11.015>>.

MURRAY, J. R.; PENNING, T. M. **Carcinogenic Polycyclic Aromatic Hydrocarbons**. 3 ed. Amsterdã: Elsevier, 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-801238-3.95691-5>>.

NAING, N. N.; YAU LI, S. F.; LEE, H. K. Magnetic micro-solid-phase-extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons in water. **Journal of Chromatography A**, v. 1440, p. 23–30, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2016.02.046>>.

NASCIMENTO, M. M.; DA ROCHA, G. O.; DE ANDRADE, J. B. Pesticides in the atmospheric environment: An overview on their determination methodologies. **Analytical Methods**, v. 10, n. 37, p. 4484–4504, 2018.

NASCIMENTO, M. M.; DA ROCHA, G. O.; DE ANDRADE, J. B. Simple and effective dispersive micro-solid phase extraction procedure for simultaneous determination of polycyclic aromatic compounds in fresh and marine waters. **Talanta**, v. 204, n. April, p. 776–791, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.06.061>>.

NASCIMENTO, M. M.; DA ROCHA, G. O.; DE ANDRADE, J. B. A rapid low-consuming solvent extraction procedure for simultaneous determination of 34 multiclass pesticides associated to respirable atmospheric particulate matter (PM_{2.5}) by GC–MS. **Microchemical Journal**, v. 139, p. 424–436, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.microc.2018.03.023>>.

NASIRI, M.; AHMADZADEH, H.; AMIRI, A. Sample preparation and extraction methods for pesticides in aquatic environments : A review. **TrAC-Trends in Analytical Chemistry**, v. 123, p. 1–26, 2020.

NAVARRO, S.; VELA, N.; NAVARRO, G. An overview on the environmental behaviour of pesticide residues in soils. **Spanish Journal of Agricultural Research**, v. 5, n. 3, p. 357–375, 2007.

PARENTE, C. E. T. et al. Pyrethroid stereoisomerism: Diastereomeric and enantiomeric selectivity in environmental matrices – a review. **Orbital**, v. 10, n. 4 Special Issue, p. 337–345, 2018.

PEREIRA, V. J. et al. Physical-chemical properties of pesticides: concepts, applications, and interactions with the environment. **Bioscience Journal**, v. 32, n. 3, p. 627–641, 2016.

PÉREZ-FERNÁNDEZ, V. et al. Recent advancements and future trends in environmental analysis: Sample preparation, liquid chromatography and mass spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 983, p. 9–41, 2017.

POOLE, C. F. Ionization-based detectors for gas chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 1421, p. 137–153, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2015.02.061>>.

POOLE, C. F. New trends in solid-phase extraction. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 22, n. 6, p. 362–373, jun. 2003. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0165993603006058>>.

RASHIDI NODEH, H. et al. Magnetic graphene coated inorganic-organic hybrid nanocomposite for enhanced preconcentration of selected pesticides in tomato and grape. **Journal of Chromatography A**, v. 1509, p. 26–34, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2017.06.032>>.

SABUROUH, N.; JABBARI, A.; PARASTAR, H. An innovative chemometric approach for simultaneous determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in oil-contaminated waters based on dispersive micro-solid phase extraction followed by gas chromatography. **Microchemical Journal**, v. 159, n. August, p. 105407, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.microc.2020.105407>>.

SALISAENG, P. et al. Vortex-Assisted Dispersive Micro-Solid Phase Extraction Using CTAB-Modified Zeolite NaY Sorbent Coupled with HPLC for the Determination of Carbamate Insecticides. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 64, n. 10, p. 2145–2152, 2016.

SANTOS, A. G. et al. A simple, comprehensive, and miniaturized solvent extraction method for determination of particulate-phase polycyclic aromatic compounds in air. **Journal of Chromatography A**, v. 1435, p. 6–17, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2016.01.018>>.

SANTOS, L. O. et al. Simultaneous determination of PAHS, nitro-PAHS and quinones in surface and groundwater samples using SDME/GC-MS. **Microchemical Journal**, v. 133, p. 431–440, 2017.

SARAJI, M. et al. Dispersive liquid-liquid microextraction of chloroacetic acids from water samples using a syringe-like glass extraction vessel. **Microchemical Journal**, v. 146, n. October 2018, p. 914–921, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.microc.2019.02.030>>.

SARKER, D. S.; LATIF, Z.; GRAY, A. I. **Natural Products Isolation**. 2 ed. New Jersey: Humana Press, 2006.

SCHMIDT, A.; STRUBE, J. **Application and Fundamentals of Liquid-Liquid Extraction Processes: Purification of Biologicals, Botanicals, and Strategic Metals**. Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology. New Jersey: John Willey & Sons, 2018. p. 1–52.

SHAHRIMAN, M. S. et al. Polyaniline-dicationic ionic liquid coated with magnetic nanoparticles composite for magnetic solid phase extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons in environmental samples. **Talanta**, v. 178, p. 211–221, 2018.

SHI, Z. et al. Dispersive micro-solid phase extraction using cotton based carbon fiber sorbent for the determination of three polycyclic aromatic hydrocarbons in tea infusion by gas chromatography-quadrupole mass spectrometry. **Microchemical Journal**, v. 151, n. April, p. 104209, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.microc.2019.104209>>.

SILVA-BARNI, M. F. et al. Spatial and temporal distribution of pesticides and PCBs in the atmosphere using XAD-resin based passive samplers: A case study in the Quequén Grande River watershed, Argentina. **Atmospheric Pollution Research**, v. 9, n. 2, p. 238–245, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.apr.2017.09.008>>.

SOARES, P. K. **Planejamento quimiométrico para otimização do solvente extrator e análise exploratória da impressão digital cromatográfica de *Erythrina speciosa* Andrews**, 2010, 240p. Tese (Doutorado em Ciências). Universidade Estadual de Campinas – Unicamp, São Paulo.

SOLA, M. C. R. et al. Occurrence of 3-nitrobenzanthrone and other powerful mutagenic polycyclic aromatic compounds in living organisms: polychaetes. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 1–12, 2020.

SOUSA, E. T.; LOPES, W. A.; DE ANDRADE, J. B. Fontes, formação, reatividade e determinação de quinonas na atmosfera. **Química nova**, v. 39, n. 4, p. 486–495, 2016.

SPARLING, D. W. **Organochlorine pesticides**. In: ELSEVIER (Org.). . Ecotoxicology Essentials: Environmental Contaminants and their Biological Effects on Animals and Plants. Amsterdã:Elsevier, 2016. p. 69–107.

STOUT, S. A. et al. Beyond 16 Priority Pollutant PAHs: A Review of PACs used in Environmental Forensic Chemistry. **Polycyclic Aromatic Compounds**, v. 35, n. 2–4, p. 285–315, 2015.

TANG, S. et al. In-syringe extraction using compressible and self-recoverable, amphiphilic graphene aerogel as sorbent for determination of phenols. **Talanta**, v. 195, p. 165–172, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2018.11.038>>.

TANG, W. et al. Pyrethroid pesticide residues in the global environment: An overview. **Chemosphere**, v. 191, n. 308, p. 990–1007, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.10.115>>.

TANKIEWICZ, M.; FENIK, J.; BIZIUK, M. Determination of organophosphorus and organonitrogen pesticides in water samples. **TrAC-Trends in Analytical Chemistry**, v. 29, n. 9, p. 1050–1063, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.trac.2010.05.008>>.

TEÓFILO, R. F.; FERREIRA, M. M. C. Quimiometria II: Planilhas eletrônicas para cálculos de planejamentos experimentais, um tutorial. **Química Nova**, v. 29, n. 2, p. 338–350, 2006.

TIMOFEEVA, I.; STEPANOVA, K.; BULATOV, A. In-a-syringe surfactant-assisted dispersive liquid-liquid microextraction of polycyclic aromatic hydrocarbons in supramolecular solvent from tea infusion. **Talanta**, v. 224, n. November 2020, p. 121888, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2020.121888>>.

TOMINAGA, M. Y. et al. PCDD, PCDF, dl-PCB and organochlorine pesticides monitoring in São Paulo City using passive air sampler as part of the Global Monitoring Plan. **Science of the Total Environment**, v. 571, p. 323–331, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.07.173>>.

United States Environmental Protection Agency (USEPA), **EPA Dashboard**, Disponível em: <<https://comptox.epa.gov/dashboard/dsstoxdb/results?search=naphthalene>> Acesso em: 17 Jan. 2021.

WALGRAEVE, C. et al. Oxygenated polycyclic aromatic hydrocarbons in atmospheric particulate matter: Molecular characterization and occurrence. **Atmospheric Environment**, v. 44, n. 15, p. 1831–1846, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.atmosenv.2009.12.004>>.

WANG, P. et al. Application of a magnetic graphene nanocomposite for organophosphorus pesticide extraction in environmental water samples. **Journal of Chromatography A**, v. 1535, p. 9–16, 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2018.01.003>>.

WEI, M. et al. Formation of bicyclic polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) from the reaction of a phenyl radical with cis-3-penten-1-yne. **RSC Advances**, v. 8, p. 13226–13236, 2018.

WHO. **The WHO Recommended Classification of Pesticides by Hazard and Guidelines to Classification**. Disponível em: <<https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/332193/9789240005662-eng.pdf?ua=1>>. Acesso em: 25 dez. 2020.

WU, Z. et al. Atmospheric occurrence, transport and gas–particle partitioning of polychlorinated biphenyls over the northwestern Pacific Ocean. **Atmospheric Environment**, v. 167, p. 487–495, 2017. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1352231017305691>>.

WYMORE, T. et al. Hydrolysis of DFP and the nerve agent (S)-sarin by DFPase proceeds along two different reaction pathways: Implications for engineering bioscavengers. **Journal of Physical Chemistry B**, v. 118, n. 17, p. 4479–4489, 2014.

YAFFE, D. et al. Multimedia Analysis of PAHs and Nitro-PAH Daughter Products in the Los Angeles Basin. **Risk Analysis**, v. 21, n. 2, p. 275–294, 2001.

YANG, T. et al. Comparative study of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and heavy metals (HMs) in corals, surrounding sediments and surface water at the Dazhou Island, China. **Chemosphere**, v. 218, p. 157–168, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.11.063>>.

YENISOY-KARAKAŞ, S.; GAGA, E. O. Validation of one-step cleanup and separation method of polychlorinated biphenyls, organochlorine pesticides, and polycyclic aromatic hydrocarbons from atmospheric gas- and particle-phase samples. **Talanta**, v. 115, p. 150–158, 2013.

XIAN, F.; HENDRICKSON, C. L.; MARSHALL, A. G. High resolution mass spectrometry. **Analytical Chemistry**, v. 84, n. 2, p. 708–719, 2012.

ZHANG, MEIXING et al. Magnetic adsorbent based on mesoporous silica nanoparticles for magnetic solid phase extraction of pyrethroid pesticides in water samples. **Journal of Chromatography A**, v. 1598, p. 20–29, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2019.03.048>>.

ZHANG, MINGMING et al. Distribution, sources, and risk assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in surface sediments of the Subei Shoal, China. **Marine Pollution Bulletin**, v. 149, n. October, p. 110640, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.110640>>.

ZHANG, R. et al. Distribution, fate and sources of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in atmosphere and surface water of multiple coral reef regions from the South China Sea: A case study in spring-summer. **Journal of Hazardous Materials**, v. 412, p. 125214, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.125214>>.

ZHENG, B. et al. Chemosphere Distribution and ecological risk assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons in water, suspended particulate matter and sediment from Daliao River estuary and the adjacent area, China. **Chemosphere**, v. 149, p. 91–100, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.01.039>>.

ZHOU, Q. et al. Magnetic solid phase extraction of heterocyclic aromatic hydrocarbons from environmental water samples with multiwalled carbon nanotube modified magnetic polyamido-amine dendrimers prior to gas chromatography-triple quadrupole mass spectrometer. **Journal of Chromatography A**, v. 1639, p. 461921, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2021.461921>>.

ZUBROD, J. P. et al. Fungicides: An Overlooked Pesticide Class? **Environmental Science & Technology**, v. 53, p. 3347–3365, 2019.

**CAPÍTULO II – DESENVOLVIMENTO DE UM PROCEDIMENTO DE EXTRAÇÃO EM
FASE MICRO-SÓLIDA DISPERSIVA PARA DETERMINAÇÃO DE
COMPOSTOS POLICÍCLICOS AROMÁTICOS EM AMOSTRAS DE
ÁGUA DOCE E ÁGUA DO MAR**

2.1 INTRODUÇÃO

Os CPAs, principalmente os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) e seus derivados nitrados (nitro-HPAs) e oxigenados (oxi-HPAs), são contaminantes orgânicos com potencial carcinogênico e mutagênico, derivados de atividades antrópicas (exploração de petróleo, queima de biomassa e/ou vazamento de combustíveis fósseis) e que podem estar presente nos corpos d'água (SANTOS, *et al.*, 2017; SRIVASTAVA; SREEKRISHNAN; NEMA, 2018). Embora os CPAs sejam encontrados nos corpos d'água em baixas concentrações, a presença e os níveis de concentração destes compostos em água devem ser monitorados com extrema atenção e periodicamente. Para isso, é de grande importância o desenvolvimento de novos procedimentos de extração/pré-concentração destes compostos que permitam alcançar limites de detecção e quantificação adequados e compatíveis com as técnicas instrumentais de análise disponíveis na maioria dos laboratórios.

As técnicas clássicas de extração como a extração em fase sólida (SPE) realizadas em discos ou cartuchos têm sido utilizadas ao longo do tempo para a extração de CPAs. A SPE oferece muitas vantagens, tais como: menor consumo de solvente na etapa de dessorção, manipulação simples, facilidade de automação e elevado fator de pré-concentração (NASIRI; AHMADZADEH; AMIRI, 2020). No entanto, essa técnica também possui desvantagens, sendo relatados problemas como variação de lote para lote (cartuchos), possibilidade de entupimento dos cartuchos quando amostras contendo elevado teor de sólidos dissolvidos são utilizadas, limitações para o uso com novos sorventes nanoestruturados, elevado custo por amostra em comparação com LLE e, às vezes, um elevado volume de amostra (0,5 a 4 L) é necessário para atingir fatores de enriquecimento adequados (PŁOTKA-WASYLKA *et al.*, 2015, 2016).

Com o desenvolvimento da extração em fase sólida dispersiva (DSPE) introduzida por Anastassiades *et al.* em 2003, surgiu a extração em fase micro-sólida dispersiva (D- μ -SPE), que superou muitos problemas relacionados a SPE

(ANASTASSIADES *et al.*, 2003; CHISVERT; CÁRDENAS; LUCENA, 2019). Na d- μ -SPE, uma pequena quantidade do sorvente (poucos miligramas) é diretamente dispersa em uma amostra líquida e a extração é realizada com auxílio de agitação mecânica ou sonicação. (CHISVERT; CÁRDENAS; LUCENA, 2019; KHEZELI; DANESHFAR, 2017). Desta forma, diferentes tipos de sorventes podem ser empregados melhorando a seletividade e o fator de pré-concentração (CHISVERT; CÁRDENAS; LUCENA, 2019).

Recentemente, vários trabalhos empregando extração em fase micro-sólida dispersiva para a extração de CPAs de amostras de água foram publicados. No entanto, eles focaram na síntese e posterior aplicação de novos e seletivos sorventes, tais como: sorventes magnéticos (CHAHKANDI; AMIRI; ARAMI, 2019; FARAJZADEH, M. A.; YADEGHARI; KHOSH MARAM, 2018; REYES-GALLARDO *et al.*, 2013; SENOSY *et al.*, 2020; WANG *et al.*, 2019; YAZDANPANA; NOJAVAN, 2019; ZHANG, MEIXING *et al.*, 2019; ZHANG, Y. *et al.*, 2017), baseados em polímeros molecularmente impressos (ARIAS *et al.*, 2020) e rede metalorgânica (AMIRI *et al.*, 2019; HUANG; KEE, 2015; ROCÍO-BAUTISTA *et al.*, 2016; SHAKOURIAN; YAMINI; SAFARI, 2020).

Diante do exposto, existe uma escassez de trabalhos reportando o desenvolvimento de dispositivos especialmente desenhados para melhorar a eficiência da D- μ -SPE, compatíveis com os princípios da Química Analítica Verde e capazes de permitir a extração simultânea de várias amostras. Alguns poucos estudos relatam o desenvolvimento de dispositivos simples e eficazes para a extração de poluentes orgânicos. Por exemplo, García-Valverde *et al.* (2016) desenvolveram um procedimento D- μ -SPE em seringa para a extração de clorofenóis usando fibra de carbono como sorvente. Apesar de sua eficácia, esse procedimento apresenta limitações quanto à análise simultânea de um grande número de amostras. Por outro lado, um dispositivo baseado em tubo de vidro com abertura estreita foi desenvolvido por Farajzadeh *et al.* (2017) e Farajzadeh *et al.* (2018) para a extração de resíduos de agrotóxicos em amostras de vegetais e de suco de frutas. Eles estudaram diferentes sorventes, incluindo sorventes de sílica quimicamente ligados, como C₈, C₁₈, diol, CN e NH₂ (FARAJZADEH, M. A.; YADEGHARI; KHOSH MARAM, 2018; FARAJZADEH, MIR ALI; YADEGHARI; KHOSH MARAM, 2017; GARCÍA-VALVERDE *et al.*, 2016).

2.1.1 OBJETIVOS

2.1.1.1 Objetivo Geral

O presente estudo teve como objetivo desenvolver um procedimento baseado na D- μ -SPE para a extração/pré-concentração de CPAs em amostras de água doce e água do mar.

2.1.1.1.1 Objetivos específicos

- Desenvolver um dispositivo para extração dos CPAs baseado na D- μ -SPE;
- Desenvolver um dispositivo para dessorção em microescala assistida por ultrassom;
- Avaliar a eficiência de diferentes sorventes para extração de CPAs em água;
- Otimizar as etapas de extração e dessorção dos CPAs em água utilizando técnicas de estatística multivariada;
- Avaliar os níveis de CPAs em amostras de água doce e de água do mar empregando-se o procedimento desenvolvido;
- Avaliar as vantagens e desvantagens do procedimento desenvolvido.

2.2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.2.1 Reagentes e soluções

Uma solução padrão certificada mista dos 16 HPAs prioritários, na concentração 2000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ (preparada em metanol:diclorometano (1:1, v/v)) foi adquirida da Supelco (St. Louis, EUA). A solução padrão mista foi composta pelos seguintes HPAs: naftaleno (Nap), acenaftileno (Acy), acenafteno (Ace), fluoreno (Flu), fenantreno (Phe), antraceno (Ant), fluoranteno (Flt), pireno (Pyr), benzo[*a*]antraceno (BaA), criseno (Cry), benzo[*b*]fluoranteno (BbF), benzo[*a*]pireno (BaP), benzo[*k*]fluoranteno (BkF), indeno[1,2,3-*cd*]pireno (Ind), dibenzo[*a,h*]antraceno (DbA) e benzo[*ghi*]perileno (BgP). Padrões analíticos sólidos de coroneno (Cor, 97 %), pireno- d_{10} (Pyr- d_{10} , 98 %) e fluoreno- d_{10} (Flu- d_{10} , 98 %) foram comprados da Sigma-Aldrich (St. Louis, EUA).

Uma solução padrão mista certificada dos nitro-HPAs (SRM 2264), contendo 1-nitronaftaleno (1-NNap), 2-nitronaftaleno (2-NNap), 1-metil-4-nitronaftaleno (1-Methyl-4-NNap), 1-metil-5-nitronaftaleno (1-Methyl-5-NNap), 1-metil-6-nitronaftaleno (1-Methyl-6-NNap), 2-metil-4-nitronaftaleno (2-Methyl-4-NNap), 2-nitrobifenil (2-NBP), 3-nitrobifenil (3-NBP), 4-nitrobifenil (4-NBP), 5-nitroacenafteno (5-NAce) e 2-nitrofluoreno (2-NFlu) foi adquirida do *National Institute of Standards and Technology* (NIST, EUA).

Em relação às quinonas, os padrões analíticos da 9,10-fenantrenequinona (9,10-PQ, 95%) e da 9,10-antraquinona (9,10-AQ, 99,4%) foram comprados da Sigma-Aldrich (St. Louis, EUA), enquanto que o padrão analítico da 1,4-naftoquinona (1,4-NQ, 96,5%) foi comprado da Fluka (St. Louis, EUA).

Todos os solventes utilizados neste trabalho foram de grau cromatográfico/espectroscópico. O 2-propanol (99,7%) e o acetato de etila (99,9%) foram adquiridos de JT Baker (Center Valley, EUA). O tolueno (99,9%) e o tetrahidrofurano (THF, 99,9 %) foram comprados da Sigma-Aldrich (St. Louis, EUA).

O *n*-hexano (98%) e a acetonitrila (ACN) (99,9 %) foram adquiridos da Merck (Darmstadt, Alemanha). Sorventes como o C₁₈ (tamanho de partícula: 55–105 µm), alumina (tamanho de partícula: 50–300 µm) e a sílica gel (tamanho de partícula: 55–105 µm) foram adquiridos da Waters (Milford, Massachusetts). Enquanto que a Amberlite XAD-4 (tamanho de partícula: 250-841 µm) foi adquirida da Sigma-Aldrich (St. Louis, EUA).

Uma solução estoque contendo os 16 HPAs prioritários na concentração final de 100 µg mL⁻¹ foi preparada através da diluição da solução padrão certificada em ACN. A solução estoque do padrão de coroneno e dos padrões deuterados Pyr-d₁₀ e Flu-d₁₀ foi preparada pesando-se rigorosamente uma massa do padrão sólido diretamente em um balão volumétrico de 5 mL, utilizando-se uma balança analítica Shimadzu AUD220D (Quioto, Japão) com precisão de 0,1 mg. Após solubilização em ACN, foram obtidas soluções estoque com concentrações finais de 50 µg mL⁻¹ (Cor) e 2000 µg mL⁻¹ (Pyr-d₁₀ e Flu-d₁₀). As soluções estoque das quinonas na concentração de 50 µg mL⁻¹ foram preparadas individualmente, solubilizando-se a massa do padrão sólido em 5 mL THF. Uma solução de trabalho dos nitro-HPAs (100 ng mL⁻¹) foi preparada a partir da diluição da solução padrão certificada (NIST 2264) em ACN. Soluções de trabalho dos HPAs (10,0 µg L⁻¹), quinonas (10,0 mg L⁻¹) e dos nitro-HPAs (100 µg L⁻¹) foram utilizadas para construir as curvas analíticas em sete níveis de concentração: 1,00 –70,0 ng L⁻¹ para HPAs, 0,500–50,0 µg L⁻¹ para quinonas e 0,500 –11,0 µg L⁻¹ para nitro-HPAs.

As curvas analíticas foram preparadas transferindo-se alíquotas das soluções de trabalho para balões volumétricos de 250 mL contendo água ultrapura, a qual foi obtida de um sistema MilliQ MilliPore Merck (Darmstadt, Alemanha) com resistividade de 18,2 MΩ cm (25°C) e teor de carbono orgânico < 3 ppb. Após aferir o volume, todos os pontos da curva analítica foram extraídos utilizando o procedimento de extração desenvolvido.

2.2.2 Instrumentação

A determinação de HPAs, quinonas e nitro-HPAs foi realizada utilizando-se um GC-MS QP2010-Ultra (Shimadzu, Japão) equipado com um amostrador automático

Shimadzu AOC20i + s. A separação dos analitos foi realizada através de uma coluna capilar SGE BP5MS (30 m × 0,25 mm × 0,25 µm) com uma fase estacionária apolar (composta por 5% fenil e 95% dimetilpolissiloxano). O hélio ultra puro (99,999%, White Martins, Brasil) foi utilizado como gás de arraste.

A separação e quantificação dos CPAs foi realizada utilizando-se uma versão aprimorada do método cromatográfico desenvolvido anteriormente por Santos et al. (2016). Em resumo, a temperatura inicial do forno foi mantida a 70 °C por 2 min e, em seguida, aumentada para 200 °C a 30 °C min⁻¹, sendo mantida nesse valor por 5 min. Posteriormente, a temperatura foi aumentada para 330 °C a 5 °C min⁻¹, sendo mantida nessa temperatura por 0,67 min. A vazão do gás de arraste passando pela coluna capilar foi de 1,15 mL min⁻¹. A temperatura do injetor foi mantida a 310 °C. Um volume de 1,00 µL da amostra foi injetado em modo *splitless* (SANTOS, A. G. *et al.*, 2016). O espectrômetro de massa foi equipado com um analisador de massas do tipo quadrupolo e operado no modo de impacto de elétrons (IE) a 70 eV. A fonte de íons e a temperatura da linha de transferência foram mantidas a 250 °C e 280 °C, respectivamente. A voltagem do detector foi fixada em 1,0 kV. Para garantir a máxima sensibilidade e seletividade, o monitoramento de íons selecionados (SIM) foi utilizado e os três íons mais intensos de cada composto (incluindo o íon molecular M⁺) foram selecionados. A Tabela 2.1 apresenta as condições cromatográficas utilizadas neste trabalho.

Tabela 2.1– Condições cromatográficas e parâmetros do espectrômetro de massas para a análise em modo SIM (continua).

Compostos	Íon #1 (m/z)	Íons #2 (m/z)	TR (min)
Nap	128	127 102	5,55
1,4-NQ	158	130 102	6,72
Acy	152	151 76	7,01
Ace	153	152 76	7,20
<i>Flu-d10</i> ^a	176		7,80
Flu	166	165 82	7,84
1-NNap	173	127 115	7,93

Tabela 2.1 – Condições cromatográficas e parâmetros do espectrômetro de massas para a análise em modo SIM (conclusão).

Compostos	Ion #1 (m/z)	Ions #2 (m/z)		TR (min)
1-Methyl-4-NNap	187	115	128	8,11
2-NNap	173	127	115	8,28
2-NBP	199	152	115	8,56
1-Methyl-5-NNap	187	115	128	8,85
1-Methyl-6-NNap	187	115	128	9,29
2-Methyl-4-NNap	187	115	128	9,58
Phe	178	176	152	9,73
Ant	178	176	152	9,87
3-NBP	199	152	153	10,03
4-NBP	199	152	169	10,44
9,10-AQ	208	180	152	12,51
5-NAce	199	152	153	13,14
Flt	202	201	200	14,25
2-NFlu	165	211	194	14,87
<i>Pyr-d10^a</i>	212			15,11
Pyr	202	201	200	15,22
9,10-PQ	180	208	152	16,10
BaA	228	114	226	20,96
Cry	228	113	226	21,11
BbF	252	126	250	25,81
BaP	252	126	250	27,06
Ind	276	138		31,27
DaA	278	139	276	31,39
BgP	276	138	274	32,10
Cor	300	150	298	36,75

^aPadrão deuterado. Íon #1: fragmento de quantificação. Íons #2: fragmentos de confirmação

2.2.3 Amostragem

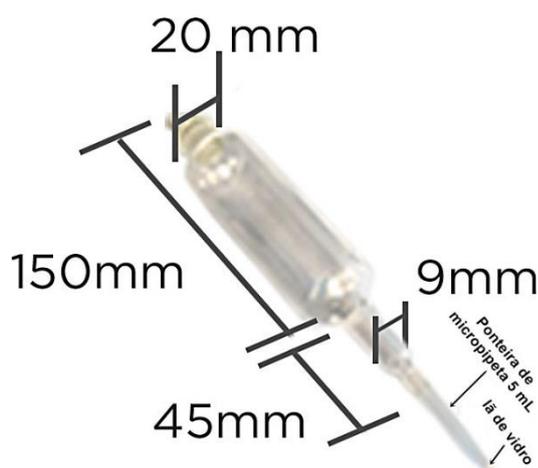
No presente estudo, foram coletadas amostras de água do mar e água doce. As amostras de água do mar foram coletadas na região da Baía de Todos os Santos (BTS, latitude -12,91073, longitude -38,48632), localizada na cidade de Salvador, Estado da Bahia, Brasil. Alguns desses locais de amostragem foram caracterizados pelo intenso tráfego de pequenas embarcações e navios e pelo histórico de exploração de petróleo e gás. As amostras de água doce foram coletadas no rio Paraguaçu, situado na cidade de Cachoeira, Bahia, Brasil. As amostras foram coletadas em frascos de vidro âmbar de 1 L e 4,5 L e armazenadas em uma caixa térmica com bolsas de gelo até o transporte para o laboratório. No laboratório, as amostras foram imediatamente filtradas em um filtro de fibra de quartzo, utilizando-se um sistema de filtração à vácuo. Após filtração, as amostras foram armazenadas em garrafas de vidro âmbar de 1L e 4,5 L com tampa rosqueável e colocadas em um refrigerador com temperatura de aproximadamente 4 °C. Todas as amostras foram analisadas dentro do prazo de 14 dias.

2.2.4 Dispositivos de extração para EF- μ SD e micro-dessorção

O desenvolvimento de procedimentos alternativos que empregam dispositivos customizados combinados com a D- μ -DPE pode ser uma alternativa interessante para a extração de poluentes orgânicos de amostras de água, uma vez que permitem interações mais dinâmicas entre o analito e o sorvente, se comparado a SPE convencional, onde o sorvente permanece imobilizado em cartuchos ou seringas (CHISVERT; CÁRDENAS; LUCENA, 2019; KHEZELI; DANESHFAR, 2017). Para alcançar este objetivo, foi desenvolvido um dispositivo de extração e um dispositivo de dessorção em microescala. O dispositivo de extração foi desenvolvido de modo a permitir uma fácil adaptação aos sistemas de agitação em vortex e também um encaixe eficiente em sistemas de filtração a vácuo. O dispositivo de extração consistiu em: *i*) um tubo de vidro de borossilicato cilíndrico de 150 mm de comprimento com

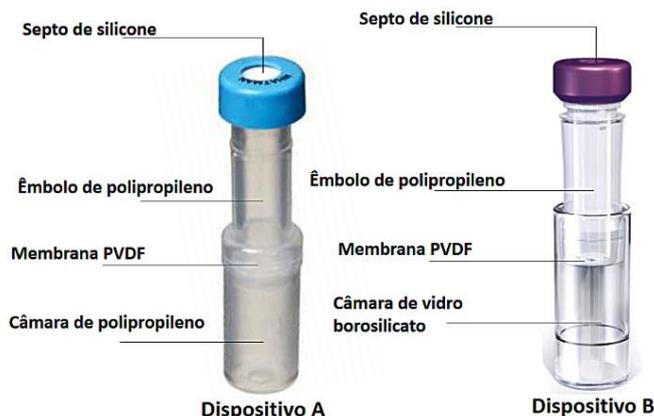
abertura superior de 20,0 mm para introdução da amostra e diâmetro interno de 45 mm; *ii*) um tubo de vidro borossilicato estreito de 45,0 mm de comprimento com diâmetro interno de 9,0 mm e abertura na extremidade inferior de inferior de 9,0 mm (Figura 2.1). Uma ponteira de micropipeta de 5 mL contendo aproximadamente 20 mg de lã de vidro foi adaptada ao final do dispositivo para realizar a retenção do sorvente durante a filtração (Figura 2.1). Essa ponteira teve uma abertura de 3,0 mm na extremidade inferior para permitir a passagem relativamente rápida do fluxo de água durante a filtração. Para evitar possíveis perdas do sorvente, a lã de vidro foi compactada firmemente na extremidade da ponteira de micropipeta, permitindo que apenas a água fluísse através dela.

Figura 2.1 – Dimensões do dispositivo de extração para D- μ -DPE.



A desorção dos analitos foi realizada em um dispositivo de desorção em microescala Cytiva Whatman Mini-UniPrep (Marlborough, Massachusetts, EUA), adquirido comercialmente mas adaptado para realizar as etapas de desorção (em microescala), filtração e injeção em um único dispositivo (Figura 2.2) (MERCK, 2020).

Figura 2.2 – Dispositivos de dessorção em microescala utilizados no estudo. O dispositivo A foi construído inteiramente de polipropileno e o dispositivo B apresenta uma câmara de vidro borosilicato e êmbolo de polipropileno.



Fonte: Adaptado de Merck (2020).

Atualmente, existem dois modelos de dispositivos deste tipo no mercado: o dispositivo “A” (Whatman Mini-UniPrep) e o dispositivo “B” (Whatman Mini-UniPrep G2) (Figura 2.2). O dispositivo A foi constituído basicamente por duas partes, uma câmara de polipropileno de alta densidade com capacidade de 0,5 mL e um êmbolo de polipropileno que consistiu em uma membrana de filtração de difluoreto de polivinilideno (PVDF) (tamanho de poro de 0,22 μm) e uma tampa de propileno com um septo de silicone pré-fixado. Por sua vez, o dispositivo B também foi formado por duas partes distintas, sendo uma câmara de vidro de borosilicato (0,5 mL) e um êmbolo de polipropileno contendo um *vial* interno de vidro borosilicato (330 μL), uma membrana filtrante de PVDF (tamanho de poro de 0,22 μm) e uma tampa de polipropileno com um septo de silicone pré-fixado. O dispositivo B tem dimensões similares ao dispositivo A e ambos apresentam o mesmo mecanismo de funcionamento. Estes dois dispositivos foram empregados com sucesso em aplicações envolvendo a microextração sólido-líquido para extração de agrotóxicos no material particulado atmosférico (PM_{2,5}) e compostos policíclicos aromáticos em amostras de PM_{2,5}, sedimentos e organismos marinhos (NASCIMENTO; DA ROCHA; DE ANDRADE, 2018; NASCIMENTO, DA ROCHA; DE ANDRADE, 2017; SANTOS, *et al.*, 2016). No entanto, um estudo realizado por Nascimento, Da Rocha e De

Andrade (2017) investigou a eficiência destes dois tipos de dispositivos na extração de agrotóxicos no material particulado atmosférico. De acordo com os resultados dos autores, verificou-se que o dispositivo B resultou em melhores resultados, com menos compostos interferentes presentes no cromatograma. Durante a etapa de extração, a mistura de solventes combinada com ao aquecimento provocado pelo ultrassom, promove a lixiviação dos monômeros de baixa massa molar que compõem câmara de polipropileno do dispositivo A. Estes compostos são detectados pelo espectrômetro de massas, podendo apresentar fragmentos de massas idênticos aos dos analitos. Desta forma, o processo de micro-dessorção realizado neste estudo foi realizado apenas com o dispositivo B.

2.2.5 Otimização do procedimento de extração

2.2.5.1 Escolha do tipo e da quantidade do sorvente

Considerando as diferenças de polaridade dos CPAs estudados, foram estudados quatro diferentes sorventes para a extração simultânea de HPAs, nitro-HPAs e quinonas. Os sorventes foram: C₁₈, alumina, XAD-4 e sílica gel. Apesar destes sorventes apresentarem baixa seletividade em comparação com os modernos sorventes nanoestruturados e/ou funcionalizados (TAN *et al.*, 2017), eles são extratores eficazes para uma ampla classe de compostos orgânicos, incluindo CPAs, e estão facilmente disponíveis comercialmente, além de serem totalmente viáveis para uso na maioria dos laboratórios. Para a avaliação da eficiência dos sorventes, as condições de extração foram definidas de acordo com as faixas estudadas nos trabalhos mais recentes. Assim, o tempo de extração foi fixado em 10 min, a agitação em vortex em 1000 rpm e o tempo de sonicação foi de 23 min. Todos os experimentos foram realizados em duplicata (n=2) com 20 mL de água ultrapura intencionalmente contaminada com HPAs, nitro-HPAs e quinonas na concentração de 1,00 µg L⁻¹ para cada composto.

Após a seleção do tipo do sorvente, a massa do sorvente selecionado foi avaliada na faixa de 70 mg a 150 mg. Os testes foram realizados em duplicata, utilizando-se 20 mL de água contendo os HPAs, nitro-HPAs e as quinonas na concentração de 1,00 µg L⁻¹.

2.2.5.2 Otimização multivariada

As condições de extração da D- μ SPE foram otimizadas empregando-se sequencialmente, o planejamento fatorial fracionário e a matriz de Doehlert. Inicialmente, um planejamento fatorial fracionário de resolução IV (2^{4-1}) foi empregado como um experimento de triagem para avaliar a influência de cada fator na extração dos HPAs, nitro-HPAs e quinonas. Os seguintes fatores foram avaliados: tempo de extração (5 a 30 min), velocidade de agitação (500 a 1500 rpm), força iônica da solução, por meio da adição de NaCl (0 a 10%) e o tempo de dessorção (5 a 20 min, sob sonicação). Para todos os experimentos, foram utilizados 20 mL de uma solução mista $1,00 \mu\text{g L}^{-1}$ de HPAs, nitro-HPAs e quinonas. A área de pico de cada um dos compostos foi selecionada como resposta experimental. Todos os experimentos foram realizados em ordem aleatória (sorteio) e com três réplicas ($n=3$) no ponto central para obtenção do erro experimental. Os fatores mais significativos foram selecionados para otimização utilizando a MSR com o objetivo de obter os valores críticos e, portanto, as condições ótimas. A matriz de Doehlert de três variáveis foi escolhida devido à maior eficiência em comparação com outras MSR.

2.2.5.3 Escolha do solvente de dessorção

Para a etapa de dessorção, selecionou-se o *n*-hexano, tolueno e acetato de etila como solventes de dessorção baseados em trabalhos publicados recentemente (LÓPEZ-LÓPEZ *et al.*, 2017; SANTOS *et al.*, 2017; YAZDANPANA; NOJAVAN, 2019). Todos os experimentos foram realizados utilizando-se as condições de extração otimizadas previamente. Os experimentos foram realizados utilizando-se 20 mL de água ultrapura contendo os CPAs na concentração de $1,00 \mu\text{g L}^{-1}$. Todos os experimentos foram realizados em duplicata ($n=2$).

2.2.6 Protocolos de garantia e controle de qualidade

A fim de evitar eventos de contaminação, todas as vidrarias não volumétricas (incluindo a câmara dos dispositivos de vidro) foram limpos seguindo o Método 610 da EPA para análise de HPAs (EPA, 1986) que envolve a limpeza com DCM seguida de calcinação em uma mufla (SP Labor, Presidente Prudente-SP, Brasil) a 450 °C por 4 h. Os frascos âmbar utilizados na amostragem foram deixados em solução 10 % (v/v) de Extran neutro (Merck, Darmstadt, Alemanha) por 24 h e, após este período, foram submetidos a sonicação durante 50 min a 60 °C em um banho de ultrassom. Em seguida, os frascos foram enxaguados com água deionizada e secos em temperatura ambiente. Posteriormente, os frascos foram descontaminados com pequenas porções de DCM. Após evaporação do solvente, os frascos foram tampados e armazenados em um local limpo e livre de partículas em suspensão.

Os níveis de contaminação foram avaliados analisando-se os brancos do instrumento analítico, do solvente/reagente e do procedimento de extração. O branco do instrumento se refere a uma estimativa de contaminação do GC-MS na ausência de qualquer amostra ou padrão. O branco do solvente e/ou reagente avalia o nível de contaminação dos solventes ou reagentes usados no preparo da amostra ou dos padrões. O branco do procedimento analítico avalia todas as etapas do procedimento de extração e análise na ausência dos analitos (MITRA, 2003; NASCIMENTO; DA ROCHA; DE ANDRADE, 2018). Nenhum composto interferente foi detectado eluindo no mesmo tempo de retenção dos analitos no branco do instrumento e do solvente/reagente. Apenas pequenos picos com o mesmo íon de quantificação correspondendo ao Acy (m/z 152), Ace (m/z 153) e Flu (m/z 166) foram detectados no branco do procedimento, no entanto, Acy foi detectado abaixo do LQ, enquanto Ace e Flu estiveram abaixo do LD. Ainda assim, o sinal do branco para estes compostos foi subtraído do sinal da amostra.

Os padrões deuterados de Flu-d₁₀ e Pyr-d₁₀ foram utilizados para avaliar a eficiência do procedimento de extração em cada batelada de amostras. Esses padrões são quimicamente semelhantes aos seus análogos Flu e Pyr, mas não ocorrem naturalmente. Eles foram adicionados às amostras, brancos e curvas analíticas antes da extração empregando o procedimento proposto. Contudo, o sinal analítico destes padrões não foi utilizado para correção do sinal dos demais CPAs. Ao

invés disso, as recuperações dos padrões deuterados foram calculadas em cada extração. Se fossem observados valores muito baixos ou muito elevados de recuperação em uma determinada amostra, a extração era repetida. As recuperações médias (n=3) dos padrões deuterados nas amostras avaliadas variaram de $79,2 \pm 2,3\%$ a $137 \pm 0,1 \%$ e $78,8 \pm 1,6 \%$ a $107 \pm 0,6\%$ para Flu-d₁₀ e Pyr-d₁₀, respectivamente.

A identificação e a confirmação do analito por GC-MS foram realizadas seguindo os critérios estabelecidos pelo SAMCO: *i*) foram utilizados dois ou mais íons, incluindo o íon molecular (M⁺); *ii*) o tempo de retenção do analito na amostra foi semelhante ao do padrão em $\pm 0,20$ min; *iii*) a relação sinal-ruído do íon menos intenso deve ser maior que 3:1. Todos os analitos atenderam a esses critérios na etapa de otimização, bem como na análise das amostras reais utilizadas neste estudo (SAMCO, 2014).

2.2.7 Validação do procedimento analítico

O procedimento analítico desenvolvido foi validado de acordo com os critérios estabelecidos pela IUPAC (THOMPSON; ELLISON; WOOD, 2002) para o tipo de validação “no laboratório” (*In-house validation*). As seguintes figuras de mérito foram avaliadas: linearidade e faixa linear, precisão, LD, LQ e exatidão (através de testes de recuperação). Além disso, o fator de pré-concentração (FC) e a recuperação da extração (RE) foram calculados para avaliar quantitativamente a eficiência do procedimento de extração.

A linearidade foi avaliada levando-se em consideração o coeficiente de determinação (R²) das curvas analíticas (sete níveis de concentração) que foram analisadas empregando o procedimento proposto e injetadas em triplicata (n=3).

A precisão instrumental foi avaliada por meio de testes de precisão intradia e inter-dias. A precisão intradia foi obtida avaliando-se o desvio padrão relativo (RSD) de cinco injeções realizadas no mesmo dia (n=5). A precisão inter-dia foi calculada avaliando-se o RSD de cinco injeções em três dias diferentes (n=15). Para a precisão intradia e inter-dias, uma solução padrão mista contendo HPAs, quinonas e nitro-HPA

em concentrações de 10,0 ng L⁻¹, 10,0 µg L⁻¹ e 2,00 µg L⁻¹, respectivamente, foi extraída empregando-se procedimento proposto. O LD e o LQ foram calculados considerando os parâmetros das curvas analíticas, conforme recomendado por Ribani et al. (2007). O LD foi obtido como 3 × (SB/a) e o LQ como 10 × (SB/a), onde “SB” se refere ao desvio padrão do coeficiente linear e “a” é a inclinação da curva de calibração (RIBANI; COLLINS; BOTTOLI, 2007). A exatidão foi avaliada por meio de testes de recuperação (em triplicata) de amostras de água do mar e água doce contaminadas com HPAs, quinonas e nitro-HPAs em três níveis de concentração. A RE e o FC foi calculado de acordo com as Eq. 2.1 e 2.2 (NOJAVAN; YAZDANPANA, 2017):

$$RE (\%) = \left(\frac{n_{org}}{n_{aq}} \right) \times 100 \% = \left(\frac{v_{org}}{v_{aq}} \right) \times \left(\frac{[CPA]_{org}}{[CPA]_{aq}} \right) \times 100 \quad (2.1)$$

$$FC = \frac{[CPA]_{org}}{[CPA]_{aq}} \quad (2.2)$$

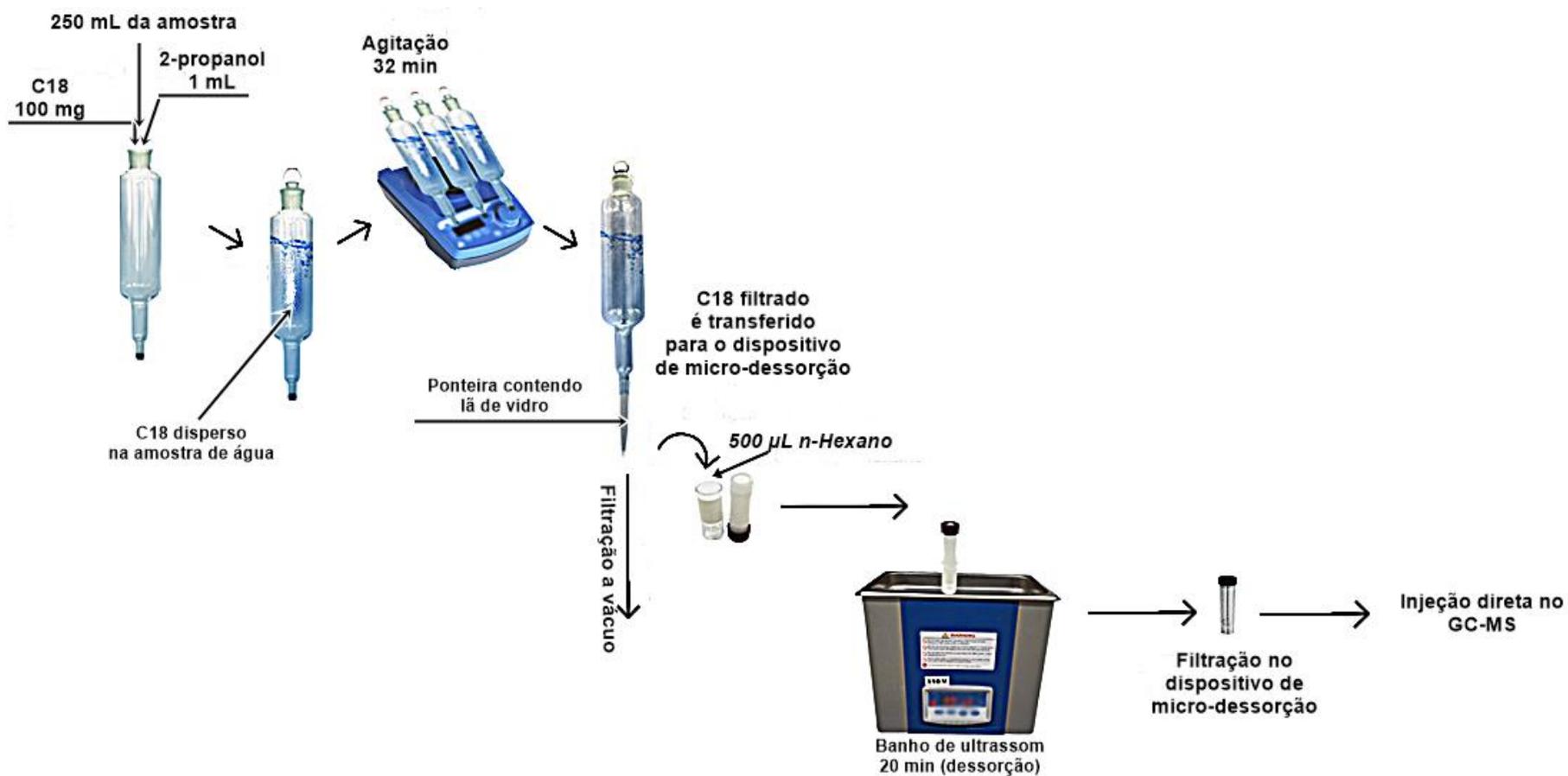
Onde “n org” é a quantidade do CPA concentrado no solvente de dessorção e “n aq” é a quantidade total do CPA inicialmente presente na solução da amostra. “V org” e “V aq” é o volume do solvente de dessorção e da amostra, respectivamente. [CPAs]org é a concentração do CPA em 500 µL do solvente orgânico após a dessorção e [CPAs]aq é a concentração inicial do CPA em 250 mL da amostra de água.

2.2.8 Aplicação do procedimento analítico em amostras reais

O procedimento desenvolvido foi aplicado na extração/pré-concentração de CPAs em um total de nove amostras, incluindo amostras de água do mar e de água doce, coletadas em diferentes regiões da BTS e na região metropolitana de Salvador. Antes das análises, o pH das amostras de água foi previamente medido com o auxílio de um pH-metro (Metrohm 827, Herisau, Suíça). Amostras com pH > 8 tiveram seu pH ajustado com adição de solução diluída de HCl 0,1 mol L⁻¹, com o objetivo de manter o pH dentro da faixa de trabalho do C₁₈ (pH 2-8).

Para o procedimento de extração, transferiu-se aproximadamente 100 mg de C₁₈ para o dispositivo de extração. A extremidade inferior do dispositivo foi previamente vedada com uma pequena seção de folha de alumínio descontaminada (cerca de 40 mm de comprimento x 10 mm de largura), recoberta com teflon. Em seguida, aproximadamente 1,00 mL de 2-propanol foi adicionado como solvente dispersante para aumentar a dispersão do C₁₈ (apolar) em água (polar). Paralelamente, transferiu-se aproximadamente 100 mL da amostra de água para um balão volumétrico de 250 mL e adicionou-se uma alíquota de uma mistura de padrões deuterados Flu-d₁₀ e Pyr-d₁₀. Após adicionar 7,4 g de NaCl (efeito “*salting out*”), completou-se o volume de modo a obter uma concentração final dos padrões deuterados de 10 ng L⁻¹. Para as amostras de água salgada, não foi realizada a adição de sal, uma vez que essas amostras já possuíam uma salinidade naturalmente elevada. O dispositivo foi fechado com uma tampa de vidro esmerilhada e agitado vigorosamente usando um vórtice IKA MS3 (Staufen, Alemanha) a 1000 rpm por 32 min. Em seguida, a amostra de água foi filtrada em um sistema de filtração a vácuo e o sorvente foi retido ao final de uma ponteira de micropipeta de 5 mL contendo 20 mg de lã de vidro. O sorvente foi lavado (sob vácuo) usando pequenas porções de água ultrapura e foi diretamente transferido para o dispositivo de dessorção em microescala (Whatman Mini-Unipred G2), onde 500 µL de *n*-hexano foi adicionado como solvente de dessorção. A dessorção dos analitos foi realizada por sonicação em um banho ultrassônico (Symphony-VRW, Radnor, Pensilvânia, EUA) durante 20 min. Por fim, o extrato foi filtrado instantaneamente no próprio dispositivo e injetado diretamente no sistema GC-MS. O procedimento de extração está ilustrado na Figura 2.3.

Figura 2.3 – Esquema geral da extração D- μ SPE empregando o procedimento proposto.



2.2.9 Tratamento de dados

A planilha de cálculo da Microsoft Excel 2013 (Microsoft, EUA) foi utilizada para realizar as operações matemáticas. A análise estatística dos dados foi realizada utilizando-se o Statistica 7.0 (StatSoft, Tulsa, EUA) e os gráficos foram plotados com o auxílio do Origin 8.0 (OriginLab, Northampton, EUA).

2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

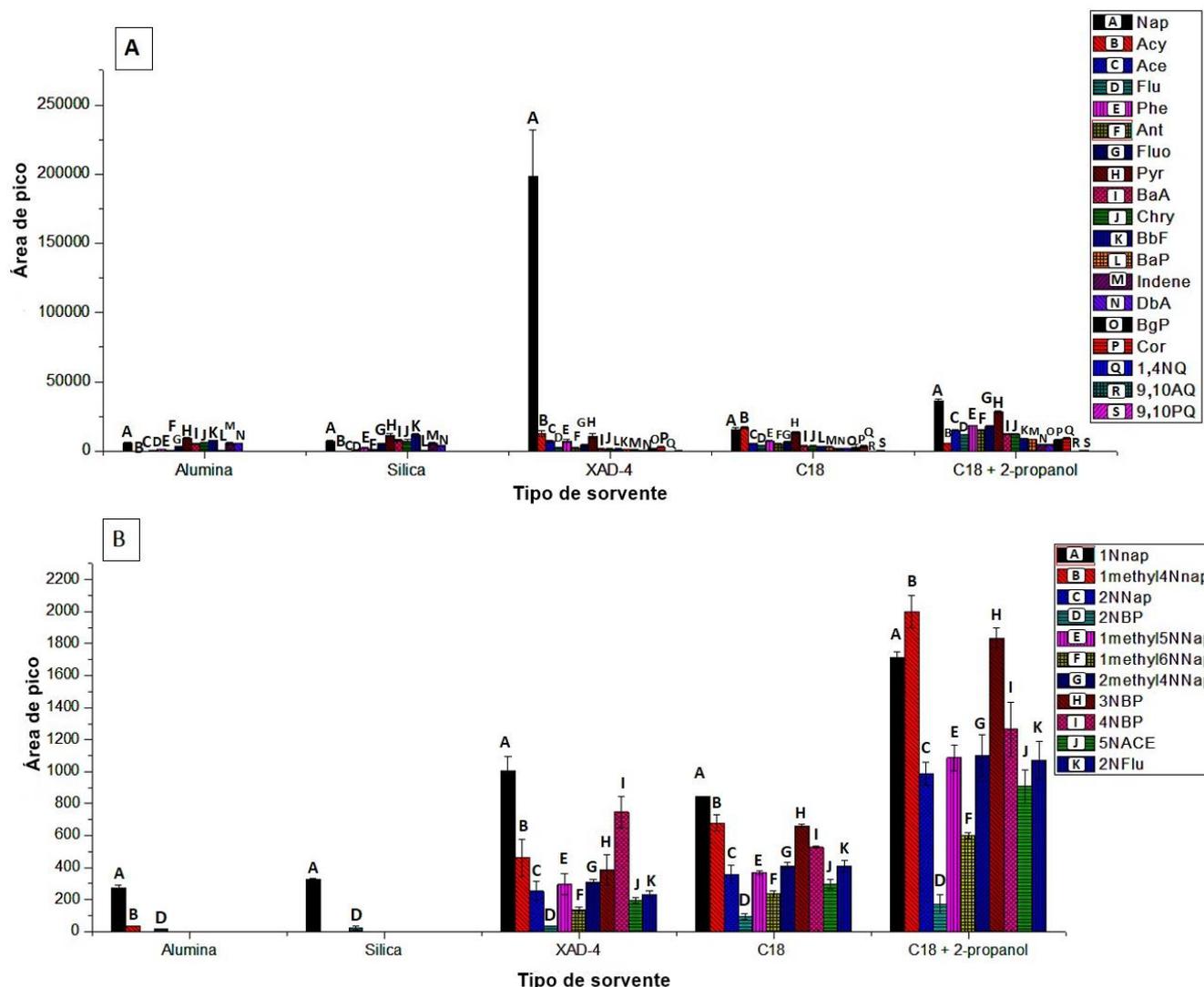
2.3.1 Otimização da extração D- μ -SPE

Visando a obtenção de FC elevados e recuperações adequadas, os parâmetros que afetam a extração D- μ -SPE foram otimizados. Os parâmetros investigados foram o tipo e quantidade do sorvente, tempo de extração, taxa de agitação, força iônica da solução (*salting out*), tempo de dessorção, tipo de solvente de dessorção e o volume da amostra. Levando-se em consideração o fato de que a capacidade volumétrica máxima do dispositivo de micro-dessorção (dispositivo B) é de 500 μ L, decidimos fixar este valor durante a otimização. Estudos prévios (REYES-GALLARDO *et al.*, 2013; SANTOS *et al.*, 2017) mostraram que o pH não afetou significativamente a eficiência da extração de CPAs, portanto, essa variável não foi otimizada. No entanto, considerando que a faixa de pH de trabalho do C₁₈ (2 - 8), o pH da amostra foi medido antes da extração. O pH da água ultrapura se manteve entre 5,0 – 6,5 e nenhum ajuste de pH adicional foi necessário.

2.3.1.1 Avaliação do tipo e da quantidade do sorvente

Na D- μ -SPE, a escolha de um sorvente adequado é crucial para garantir a eficiência da extração. Para a extração de HPAs de amostras de água, o C₁₈ e copolímeros de estireno-divinilbenzeno têm sido usados por várias décadas com bons rendimentos (MARCÉ; BORRULL, 2000). No entanto, devido à presença de grupos funcionais mais polares na estrutura química de derivados dos HPAs, como nos oxi-HPAs (quinonas) e os nitro-HPAs, o emprego de sorventes com características mais polares foi necessário. Portanto, foram investigados os sorventes C₁₈, alumina, XAD-4 e sílica gel, os quais são sorventes clássicos da SPE e, portanto, foram de fácil aquisição. Observando-se a resposta das áreas de pico para todos os compostos, os melhores resultados foram obtidos usando XAD-4 (copolímero estireno-divinilbenzeno) e C₁₈. A alumina e a sílica gel apresentaram baixa eficiência na retenção de HPAs e análogos oxigenados e, portanto, não foram mais considerados (Figura 2.4).

Figura 2.4 – Avaliação do tipo do sorvente. A) efeito do tipo do sorvente na resposta dos HPAs e quinonas. B) efeito do tipo do sorvente na resposta dos nitro-HPAs.

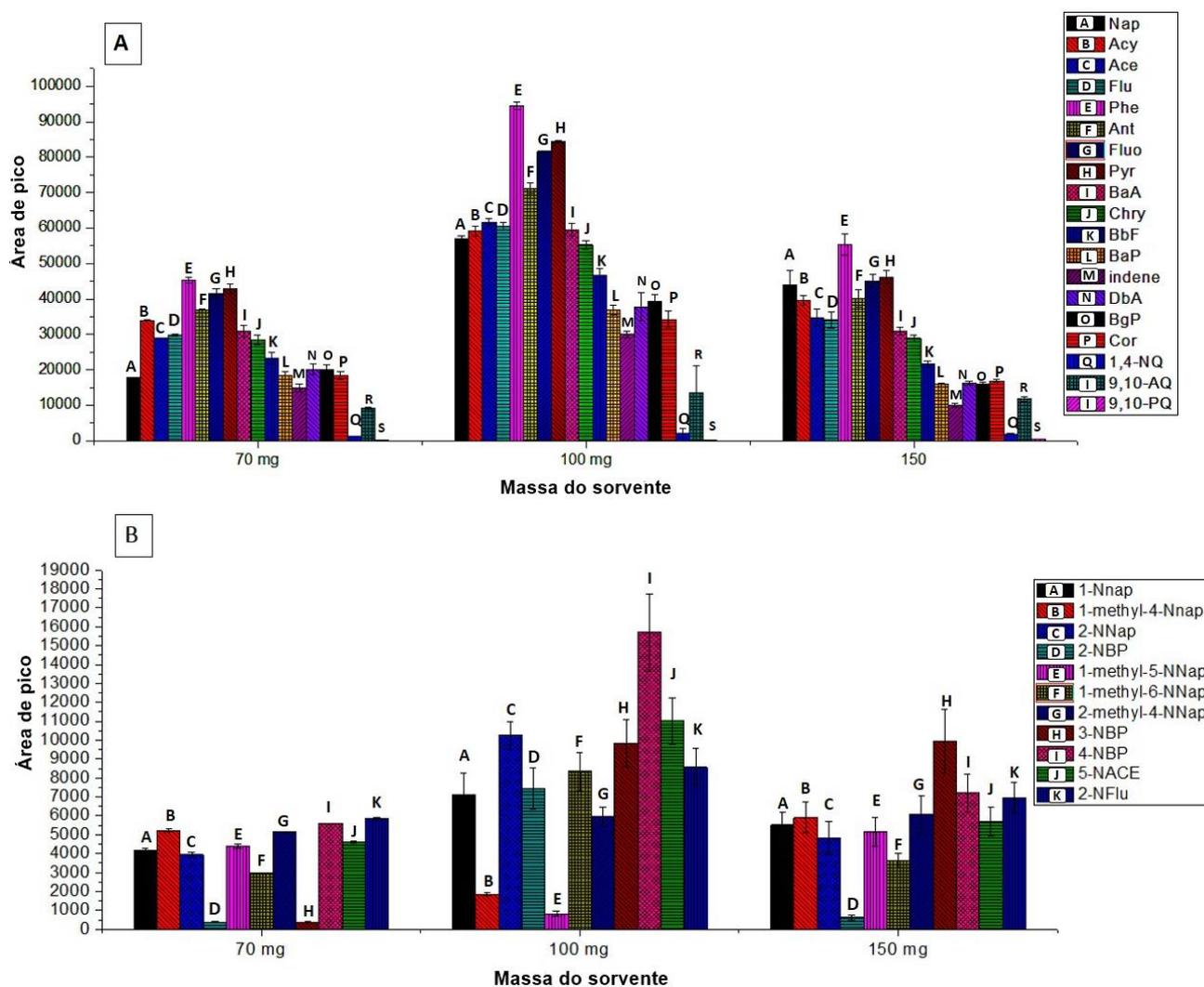


Com base no estudo realizado por Farajzadeh, Yadeghari e Khoshmaram (2017), também foi avaliada a influência do 2-propanol como solvente dispersante adicionado ao C₁₈. Os sinais dos analitos obtidos quando o solvente dispersante foi usado foram significativamente maiores (Figura 2.4). Deste modo, o solvente dispersante melhorou a dispersão do C₁₈ em água, evitando a formação de agregados (FARAJZADEH, YADEGHARI; KHOSHMARAM, 2017) e também aumentou a eficiência do processo de transferência de massa. Da mesma forma, o XAD-4 foi testado como sorvente na presença de 2-propanol. Porém, resultou na formação de uma massa muito compacta que obstruiu o orifício da ponteira de micropipeta, bloqueando a passagem do líquido e impossibilitando a filtração da amostra. Uma vez

que o C₁₈ combinado com 2-propanol apresentou bons resultados tanto na sorção dos HPAs quanto nos derivados oxigenados e nitrados, optou-se pelo uso do C₁₈ nas etapas posteriores.

No experimento seguinte, a influência da quantidade da massa de C₁₈ na resposta analítica foi avaliada na faixa 70 mg a 150 mg. Conforme ilustrado na Figura 2.5, a massa do sorvente afetou significativamente a resposta analítica dos HPAs, nitro-HPAs e quinonas. Quando se utilizou 100 mg do C₁₈, a resposta analítica para a maioria dos analitos foi consideravelmente maior (Figura 2.5).

Figura 2.5 – Efeito da massa do sorvente na resposta dos analitos. A) Áreas de pico para os HPAs e quinonas. B) Áreas de pico para os nitro-HPAs.



Quando se utilizou uma massa de 70 mg, a resposta caiu consideravelmente. Com a redução da massa de C₁₈, há conseqüentemente, uma diminuição da quantidade de partículas contendo sítios ativos capazes de interagir com os analitos. Em contrapartida, quando se empregou uma massa de 150 mg do sorvente, a resposta também caiu significativamente. Neste caso, como a dessorção foi realizada na câmara do dispositivo de dessorção em microescala, que possui uma dimensão reduzida, a quantidade de solvente adicionada (500 µL) foi insuficiente para promover uma dessorção eficiente dos analitos retidos em uma massa de 150 mg. Embora o uso de pequenos volumes de solvente sejam úteis para aumentar o FC dos analitos, volumes insuficientes podem levar a perda de eficiência na dessorção (MITRA, 2003; MOIDOVEANU; DAVID, 2002). Deste modo, levando-se consideração a relação massa/volume e as limitações de volume do dispositivo de dessorção em microescala, uma massa de 100 mg de C₁₈ foi escolhida para as etapas de otimização multivariada.

2.3.1.2 Otimização multivariada

Após definir o tipo e a massa do sorvente, foi realizado uma otimização das condições da extração através do uso de técnicas de planejamento de experimentos. Os parâmetros da extração, como tempo de extração, velocidade de agitação, força iônica da solução (porcentagem de NaCl) e o tempo de dessorção foram otimizados simultaneamente. Inicialmente, um planejamento fatorial fracionário de resolução IV (2⁴⁻¹) foi aplicado para a triagem inicial dos fatores selecionados. Levando-se em consideração a grande quantidade de respostas individuais para HPAs, nitro-HPAs e quinonas (30 modelos matemáticos diferentes), consideramos a resposta experimental como a resposta múltipla (RM) de cada área de pico. A resposta múltipla (RM) é calculada pela seguinte equação (SANTOS, *et al.*, 2009; FERREIRA, 2015) (Eq. 2.3):

$$RM = R(X1)/LS(X1) + R(X2)/LS(X2) + \dots + R(Xn)/LS(Xn) \quad (2.3)$$

Onde R (Xn) é a área do pico de um dado HPA, quinona ou nitro-HPA em experimento específico e LS (Xn) é o maior valor da área do pico no conjunto de experimentos para esse HPA, quinona ou nitro-HPA. Os dados experimentais foram analisados no software Statistica 7.0. Os modelos matemáticos propostos foram avaliados por meio da ANOVA ($p < 0,05$), que verificou as significâncias do modelo matemático e a respectiva falta de ajuste e o efeito de cada fator na resposta experimental. A fração-meia para o experimento fatorial fracionário é mostrada na Tabela 2.2.

Tabela 2.2 – Fração-meia do planejamento fatorial fracionário de resolução IV (2^{4-1}) e a resposta múltipla (RM) para cada experimento. Os valores reais são mostrados entre parênteses ao lado dos valores codificados.

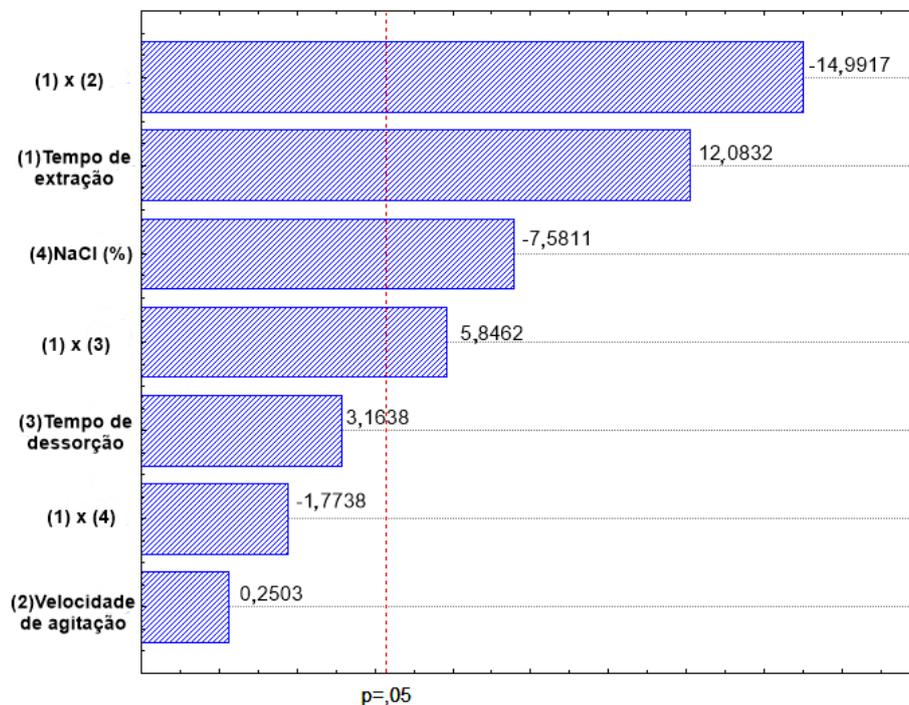
Experimento	Contrastes				RM
	Tempo de extração (min)	Velocidade de agitação (rpm)	Tempo de dessorção (min)	[NaCl] (%)	
1	-1(5)	-1(500)	-1(5)	-1(0)	12,69
2	1(30)	-1(500)	-1(5)	1(10)	28,16
3	-1(5)	1(1500)	-1(5)	1(10)	23,39
4	1(30)	1(1500)	-1(5)	-1(0)	22,06
5	-1(5)	-1(500)	1(20)	1(10)	3,07
6	1(30)	-1(500)	1(20)	-1(0)	48,98
7	-1(5)	1(1500)	1(20)	-1(0)	26,92
8	1(30)	1(1500)	1(20)	1(10)	21,67
9 (C)	0 (17,5)	0(1000)	0(12,5)	0(5)	19,08
10 (C)	0 (17,5)	0(1000)	0(12,5)	0(5)	21,40
11 (C)	0 (17,5)	0(1000)	0(12,5)	0(5)	21,16

Com base na RM para cada experimento foram calculados os efeitos principais e de interação para cada fator. Esses efeitos são melhor representados na forma de gráfico de Pareto, conforme mostrado na Figura 2.6.

Conforme mostrado no gráfico de Pareto, o tempo de extração teve um grande efeito positivo na resposta. Isso pode ser justificado considerando-se as interações

entre o sorvente e o analito. Um tempo de extração mais longo contribuiu para aumentar a retenção dos HPAs, quinonas e nitro-HPAs no C₁₈. Em contrapartida, a interação do tempo de extração com a velocidade de agitação teve uma influência negativa na resposta. Isso porque, longos tempos de extração combinados com uma elevada velocidade de agitação levaram a um aumento na turbulência do sistema, afetando a dispersão do sorvente e, conseqüentemente, reduzindo as interações entre o sorvente e o analito. As concentrações de NaCl acima de 5 % afetaram negativamente a resposta. O aumento da concentração de NaCl em solução contribuiu para o aumento da viscosidade, que por sua vez, contribuiu para a redução da difusão dos analitos (FARAJZADEH; YADEGHARI; KHOSH MARAM, 2017, 2018). O tempo de dessorção e a velocidade de agitação não influenciaram significativamente na resposta, visto que os valores dos coeficientes para esses fatores foram menores que o erro experimental. No entanto, a interação entre o tempo de extração e o tempo de dessorção teve um efeito significativo e positivo na resposta. Assim, o tempo de dessorção foi considerado nos experimentos posteriores usando a MSR.

Figura 2.6 – Gráfico de Pareto de efeitos padronizados



O modelo linear ajustado à resposta experimental do planejamento fatorial fracionário de resolução IV pode ser descrito conforme mostrado na Eq. 2.4, onde os termos significativos são destacados em negrito:

$$\begin{aligned}
 \text{RM} = & \mathbf{22,7}_{(\pm 0,483)} + \mathbf{6,85}_{(\pm 0,567)}\text{TE} + 0,142_{(\pm 0,567)}\text{VA} + 1,79_{(\pm 0,567)}\text{TD} - \\
 & \mathbf{4,29}_{(\pm 0,567)}\mathbf{NaCl(\%)} - \mathbf{8,50}_{(\pm 0,567)}\mathbf{TE} \times \mathbf{VA} + \mathbf{3,31}_{(\pm 0,567)}\mathbf{TE} \times \mathbf{TD} - \\
 & 1,00_{(\pm 0,567)}\mathbf{TE} \times \mathbf{NaCl(\%)}
 \end{aligned}
 \tag{2.4}$$

Onde, TE é o tempo de extração, VA é a velocidade de agitação e TD é o tempo de dessorção. O ajuste das respostas experimentais ao modelo linear foi avaliado através da ANOVA ($p < 0,05$), conforme mostrado na Tabela 2.3.

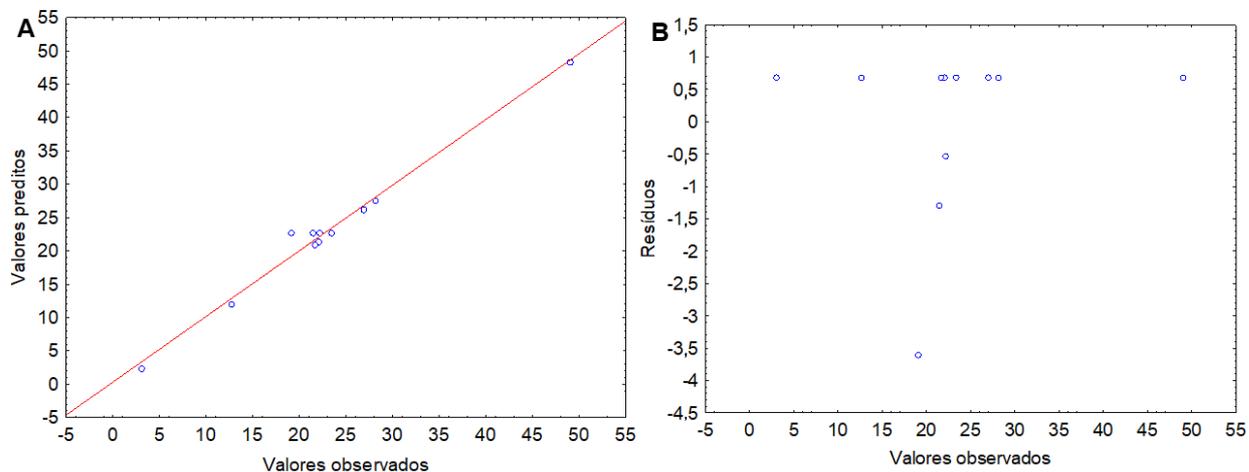
Tabela 2.3 – ANOVA ($p < 0,05$) para o modelo linear do planejamento fatorial fracionário de resolução IV.

Fonte de variação	SQ	gl	MQ	MQ _R /MQ _r *	F(critico)
Regressão	1222	7	175	28,1	8,89
Resíduos	18,7	3	6,22		
Falta de ajuste	13,5	1	13,5	5,26	18,5
Erro puro	5,14	2	2,57		

SQ: soma quadrática, gl: grau de liberdade, MQ: média quadrática, MQ_R: média quadrática da regressão, MQ_r: média quadrática residual, MQ_{faj}: média quadrática da falta de ajuste, MQ_{ep}: média quadrática do erro puro, F(critico): F tabelado, Tabela F com 5 % de significância.

Os dados da ANOVA para o modelo linear do planejamento fatorial fracionário de resolução IV mostraram que o valor de MQ_R/MQ_r (razão entre média quadrática da regressão e a média quadrática residual) para a regressão (modelo matemático) foi maior que o valor de F crítico, evidenciando que a maior parte da variância na resposta experimental foi explicada pelo modelo matemático e não pelos resíduos. Do mesmo modo, a razão entre a média quadrática da falta de ajuste e a média quadrática do erro puro (MQ_{faj}/MQ_{ep}) foi inferior ao F crítico, indicando que não houve evidência de significância de falta de ajuste do modelo linear ao nível de 95 %. Os valores dos resíduos deixados pelo modelo foram baixos, não sendo observadas anormalidades. O bom ajuste do modelo é ilustrado pelo gráfico de valores observado vs valores preditos e pelo gráfico de resíduos (Figura 2.7).

Figura 2.7 – Gráficos de valores preditos vs observados (A) e valores observados vs resíduos (B) para o modelo linear do planejamento fatorial fracionário.



Levando-se em consideração que o modelo linear se mostrou válido, os fatores significativos no planejamento fatorial fracionário (tempo de dessorção, concentração de NaCl e tempo de extração) foram estudados na matriz de Doehlert visando obter os valores críticos para cada fator. O domínio experimental para a matriz de Doehlert foi estabelecido com base nos resultados obtidos no planejamento fatorial fracionário. O fator “tempo de dessorção” foi variado de 17,5 min a 22,5 min. O “tempo de extração” foi estudado de 20 min a 40 min e o fator “percentual de NaCl” foi variado de 0 % a 5 %. Os valores reais e codificados de cada fator e as respostas múltiplas para cada experimento são apresentadas na Tabela 2.4.

Tabela 2.4 – Matriz de Doehlert com três variáveis e a resposta múltipla. Os valores reais são mostrados entre parênteses.

Experimento	Tempo de dessorção (min)	Tempo de extração (min)	NaCl (%)	RM
1	0 (20)	0(30)	0(2,5)	45,94306
2	1(25)	0(30)	0(2,5)	26,70648
3	0,5(22,5)	0,866(40)	0(2,5)	25,77689
4	0,5(22,5)	0,289(33,3)	0,817(5)	22,94627
5	-1(15)	0(30)	0(2,5)	14,06302
6	-0,5(17,5)	-0,866(20)	0(2,5)	22,68801
7	-0,5(17,5)	-0,289(26,7)	-0,817(0)	17,93753
8	0,5(22,5)	-0,866(20)	0(2,5)	19,20993
9	0,5(22,5)	-0,289(26,7)	-0,817(0)	25,74554
10	-0,5(17,5)	0,866(40)	0(2,5)	35,31216
11	0(20)	0,577(36,7)	-0,817(0)	14,32245
12	-0,5(17,5)	0,289(33,3)	0,817(5)	32,48867
13	0(20)	-0,577(23,3)	0,817(5)	23,11322
14	0(20)	0(30)	0(2,5)	50,07482
15	0(20)	0(30)	0(2,5)	40,54464
16	0(20)	0(30)	0(2,5)	39,91352

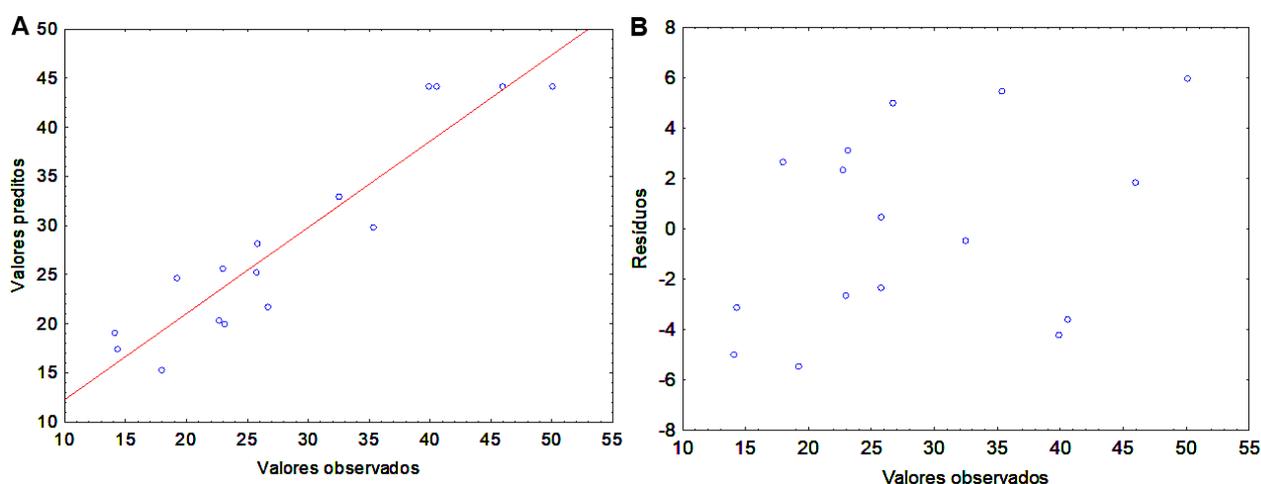
Os modelos matemáticos foram obtidos por meio do método dos mínimos quadrados e o software Statistica 7.0 foi utilizado para realizar as operações matemáticas. O modelo quadrático ajustado que descreve o domínio experimental estudado é dado pela Eq. 2.5:

$$\begin{aligned}
 \text{RM} = & \mathbf{44,12} (\pm 7,64) + 0,659 (\pm 3,82)\text{TD} - \mathbf{5,93} (\pm 3,31)\mathbf{TD}^2 + 3,23 (\pm 6,62) \text{TE} - \\
 & \mathbf{12,44} (\pm 9,93)\mathbf{TE}^2 + 3,42 (\pm 6,24)\text{NaCl} - \mathbf{14,64} (\pm 8,32) \mathbf{NaCl}^2 - 1,51 (\pm 7,64) \\
 & \text{TD} \cdot \text{TE} - 3,80 (\pm 8,06) \text{TD} \times \text{NaCl} + 7,86 (\pm 13,96) \text{TE} \times \text{NaCl}
 \end{aligned} \quad (2.5)$$

Onde TD se refere ao tempo de dessorção, TE, tempo de extração e NaCl, se refere a porcentagem de NaCl. Os coeficientes significativos foram maiores do que a incerteza (com intervalo de confiança de 95%) e estão destacados em negrito. Como pode ser visto na Eq. 2.5, apenas os termos quadráticos de cada fator foram significativos. O valor negativo dos coeficientes significativos indica que longos tempos de extração e dessorção sob sonicação, bem como elevadas concentrações de NaCl, podem reduzir significativamente a eficiência de extração.

Com o objetivo de avaliar a capacidade do modelo matemático em fornecer previsões de condições ótimas, a ANOVA ($p < 0,05$) foi aplicada às respostas experimentais. Embora o modelo matemático tenha deixado resíduos relativamente elevados em algumas previsões (Figura 2.8A), a maior parte dos resíduos apresentaram valores aceitáveis (considerando a complexidade do procedimento de extração) e comportamento aleatório (Figura 2.8B).

Figura 2.8 – Gráficos de valores preditos vs observados (A) e valores observados vs resíduos (B) para o modelo quadrático.



Conforme mostrado na Tabela 2.5, o modelo ajustado mostrou que $MQ_R/MQ_r > F$ (crítico) e ao mesmo tempo, $MQ_{faj}/MQ_{ep} < F$ (crítico) (FERREIRA, *et al.*, 2007; TEÓFILO; FERREIRA, 2006). Assim, o modelo matemático foi significativo e não apresentou evidência de significância de falta de ajuste, podendo ser utilizado para previsão de pontos ótimos.

Tabela 2.5 – ANOVA ($p < 0,05$) para o modelo quadrático ajustado.

Fonte de variação	SQ	gl	MQ	MQ_R/MQ_r^*	$F_{(crítico)}$
Regressão	2111	9	235	9,40	4,10
Resíduos	224	6	37,4		
Falta de ajuste	155	3	51,7	2,24	9,28
Erro puro	69,3	3	23,1		

SQ: soma quadrática, gl: grau de liberdade, MQ: média quadrática, MQ_R : média quadrática da regressão, MQ_r : média quadrática residual, MQ_{faj} : média quadrática da falta de ajuste, MQ_{ep} : média quadrática do erro puro, $F_{(crítico)}$: F tabelado, Tabela F com 5 % de significância.

A superfície de resposta resultante da matriz de Doehlert para as três variáveis é mostrada na Figura 2.9. Os valores críticos das variáveis independentes podem ser obtidos usando o critério de Lagrange, que também pode indicar a presença de um ponto de máximo, mínimo ou de sela (quando a superfície apresenta pontos de máximos e mínimos simultaneamente). Para três variáveis, o critério de Lagrange foi verificado pelo cálculo dos determinantes ΔA , ΔB e ΔC , que correspondem a ΔTD , ΔTE e $\Delta NaCl$, respectivamente. Assim, os determinantes puderam ser calculados usando as expressões (FERREIRA, 2015; FERREIRA, S., 2004) dadas pela Eq. 2.6-2.8.

$$\Delta_{TD} = \frac{\delta^2 RM}{\delta TD^2} \quad (2.6)$$

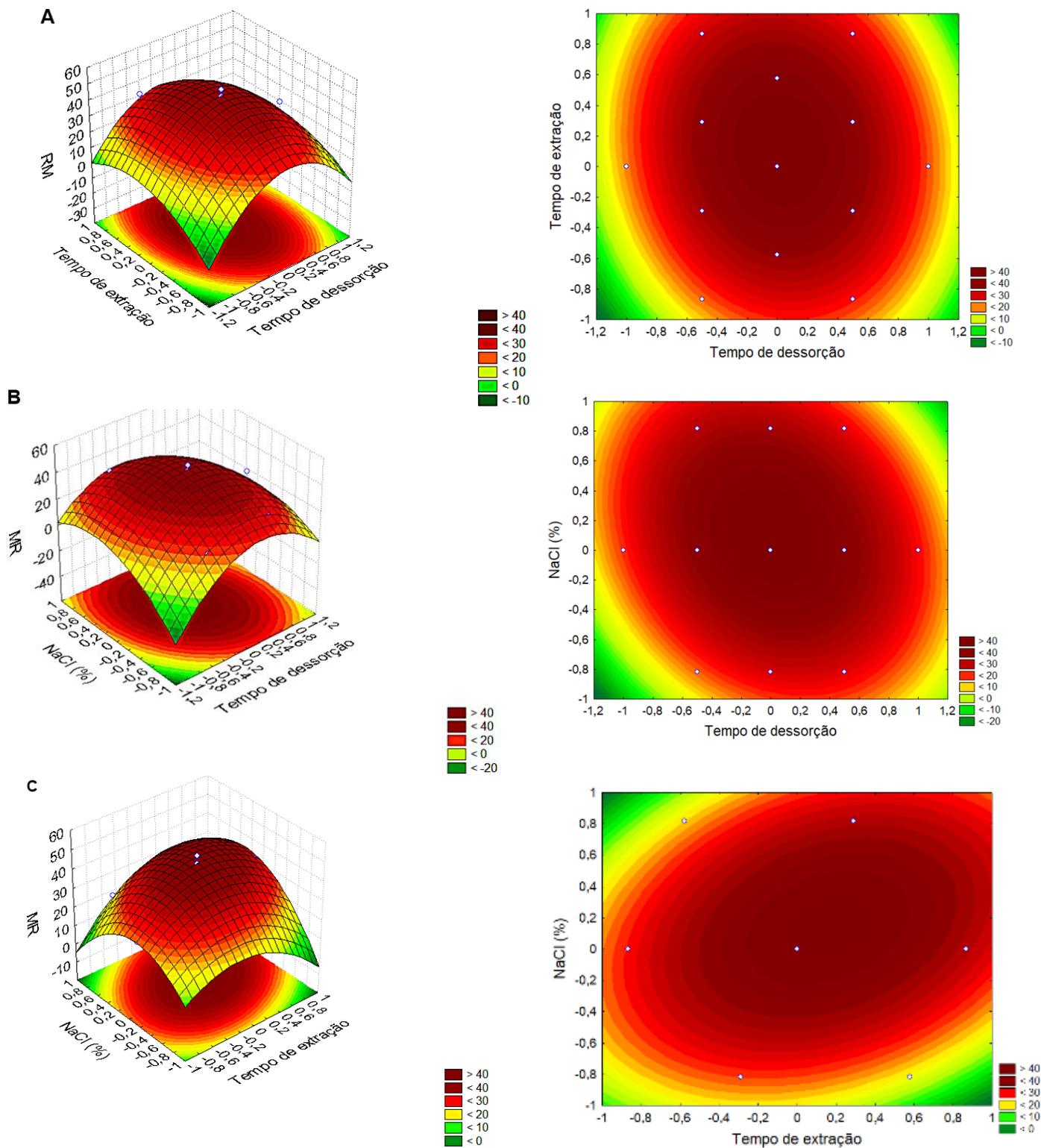
$$\Delta_{TD \times TE} = \begin{vmatrix} \frac{\delta^2 RM}{\delta STD^2} & \frac{\delta^2 RM}{\delta TE \delta TD} \\ \frac{\delta^2 RM}{\delta TD \delta TE} & \frac{\delta^2 RM}{\delta TE^2} \end{vmatrix} \quad (2.7)$$

$$\Delta_{TD \times TE \times NaCl} = \begin{vmatrix} \frac{\delta^2 RM}{\delta TD^2} & \frac{\delta^2 RM}{\delta TD \delta TE} & \frac{\delta^2 RM}{\delta TD \delta NaCl} \\ \frac{\delta^2 RM}{\delta TD \delta TE} & \frac{\delta^2 RM}{\delta TE^2} & \frac{\delta^2 RM}{\delta TE \delta NaCl} \\ \frac{\delta^2 RM}{\delta TD \delta NaCl} & \frac{\delta^2 RM}{\delta TD \delta NaCl} & \frac{\delta^2 RM}{NaCl^2} \end{vmatrix} \quad (2.8)$$

De acordo com o critério de Lagrange, quando $\Delta A < 0$, $\Delta B > 0$ e $\Delta ABC < 0$, a função apresenta um ponto estacionário de máximo. Por outro lado, quando $\Delta A > 0$, $\Delta B > 0$ e $\Delta ABC > 0$, existe um ponto estacionário de mínimo. Quando $\Delta AB = 0$, o critério não apresenta nenhuma informação e, se nenhuma das situações mencionadas se aplicam, então há um ponto de sela (FERREIRA, 2015; FERREIRA, S., 2004). Após calcular os determinantes da Eq. 2.6, 2.7 e, 2.8, os sinais de ΔTD , ΔTE e $\Delta NaCl$ indicaram um ponto estacionário de máximo. As coordenadas dos pontos críticos para TD (tempo de dessorção), TE (tempo de extração) e NaCl (concentração de NaCl (%)) foram calculadas resolvendo-se as seguintes equações: $\delta TM/TD = 0$; $\delta RM/TE = 0$; $\delta RM/NaCl = 0$, as quais foram obtidas a partir da derivação parcial do modelo

matemático em relação a cada fator. As coordenadas para TD, TE e NaCl foram -0,04049, 0,30084 e 0,25906, respectivamente. Assim, os valores experimentais para tempo de dessorção, tempo de extração e concentração de NaCl (para o efeito *salting out*) foram 20 min, 32 min e 2,9%, respectivamente.

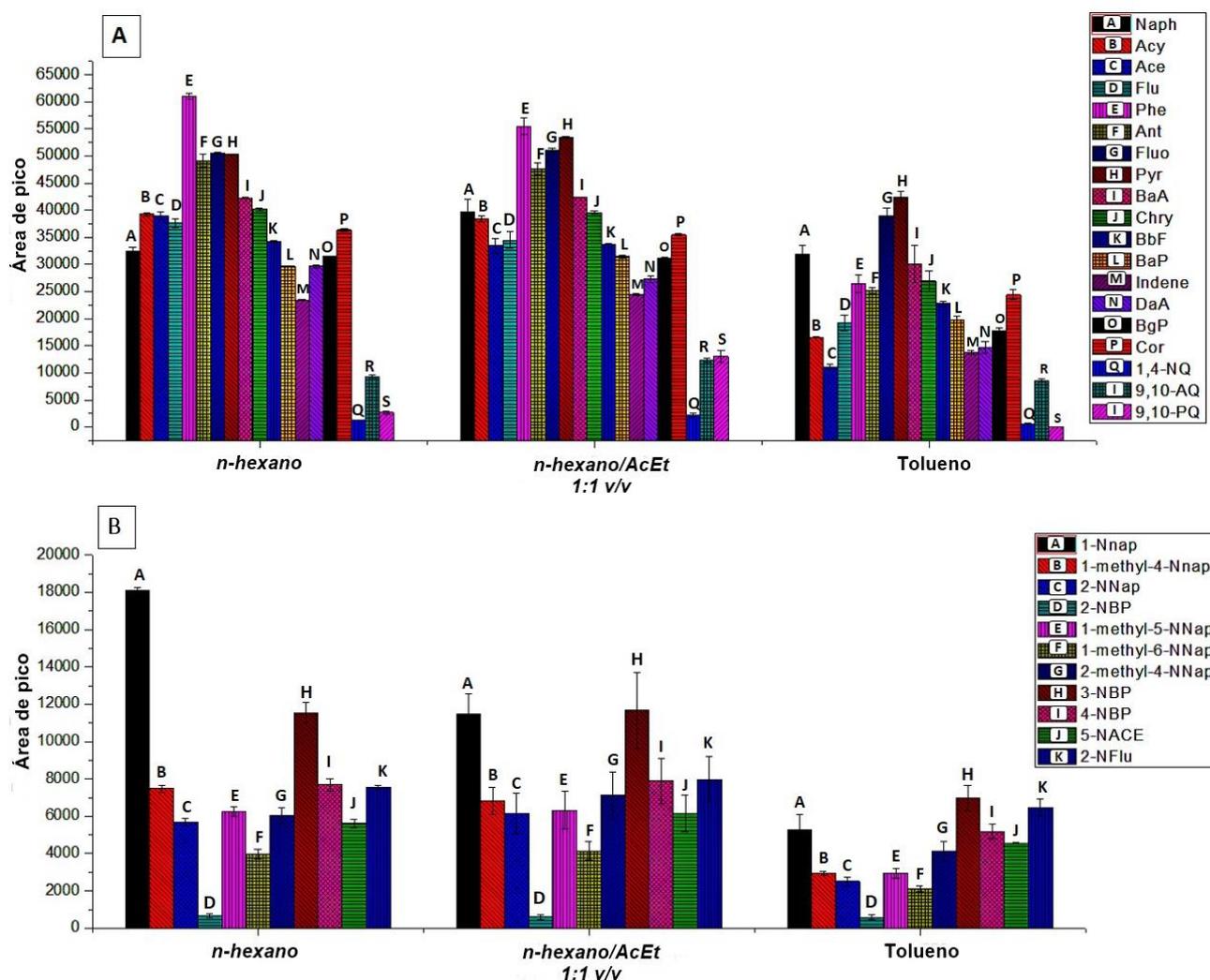
Figura 2.9 – Superfície de resposta e curvas de nível para a matriz de Doehlert. A) $RM = f(\text{tempo de extração}; \text{tempo de dessorção})$; B) $RM = f(\text{NaCl}; \text{tempo de dessorção})$; C) $RM = f(\text{NaCl}, \text{tempo de extração})$.



2.3.2 Avaliação do solvente de dessorção

Uma vez que ocorre a sorção dos analitos nas partículas do sorvente sólido é necessário realizar o processo de dessorção usando um solvente apropriado. A escolha do solvente, em geral, é feita considerando-se a polaridade necessária para a dessorção dos analitos da superfície e/ou dos poros do sorvente. Neste caso, como os analitos foram sorvidos em um sorvente apolar, como C₁₈, a dessorção pode ser realizada usando solventes orgânicos, como ACN, THF, metanol, 2-propanol, acetona, *n*-hexano, DCM, AcEt e misturas entre eles (MARCÉ; BORRULL, 2000). Para a dessorção dos HPAs e seus derivados nitrados e oxigenados, foram avaliados os solventes *n*-hexano, tolueno e AcEt, que foi empregado em uma mistura com *n*-hexano na proporção de 1:1 v/v. Com base nos resultados mostrados na Figura 2.10A e 2.10B, verificou-se que a mistura *n*-hexano:AcEt não melhorou significativamente a dessorção da maioria dos CPAs avaliados em comparação com o uso de *n*-hexano puro. No entanto, um ligeiro aumento nos valores da área do pico foi observado para os HPAs de baixa massa molar, como Nap, Flu e Pyr, além de quinonas, como 9,10-AQ e 9,10-PQ. Isso pode ser explicado considerando as características ligeiramente polares das quinonas e a menor hidrofobicidade dos HPAs de 2-4 anéis quando comparado aos HPAs > 5 anéis aromáticos.

Figura 2.10 – Avaliação do efeito do solvente na dessorção dos CPAs. As respostas são dadas em área de pico para: (A) HPAs e quinonas (B) nitro-HPAs.

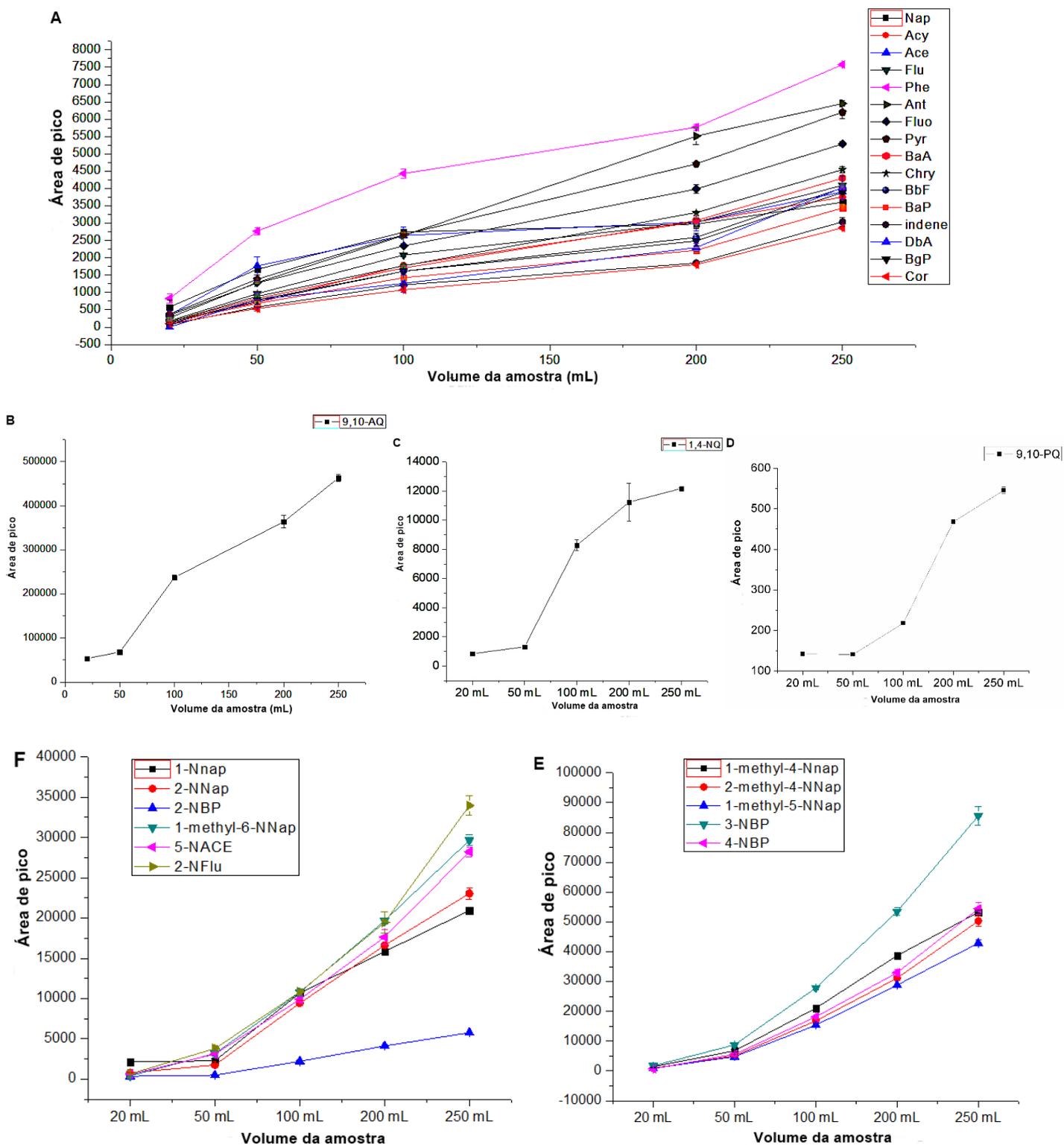


Em relação aos nitro-HPAs, os melhores rendimentos foram obtidos usando *n*-hexano, especialmente para 1-NNap (Figura 2.10B). Por outro lado, o tolueno apresentou baixa eficiência na dessorção dos CPAs. Ao contrário do *n*-hexano, este solvente apresenta uma elevada viscosidade (0,59 cPoise), que afetou negativamente processo de transferência de massa dos analitos do sorvente para o solvente de dessorção. Assim, levando-se em consideração a necessidade de determinação simultânea de HPAs, quinonas e nitro-HPAs, optou-se pelo uso do *n*-hexano como solvente de dessorção.

2.3.3 Avaliação do volume da amostra

Quando se emprega a D- μ SPE, o volume ideal da amostra é uma variável que precisa ser investigada com atenção. Qualquer volume de amostra acima da capacidade da massa de sorvente utilizada (*breakthrough*), irá causar a saturação dos sítios ativos do sorvente disponíveis para interagir com os analitos, levando a uma diminuição na eficiência da extração (MITRA, 2003; POOLE, 2003). Deste modo, o volume da amostra a ser extraída foi determinado testando-se volumes que variaram de 20 mL a 250 mL. Para 1,4-NQ e 9,10-AQ, foi usada uma solução de $10,0 \mu\text{g L}^{-1}$ e para 9,10-PQ, foi empregada uma solução de $20 \mu\text{g L}^{-1}$. As respostas máximas para todos os HPAs estudados (Figura 2.11A) e nitro-HPAs (Figuras 2.11E e 2.11F) foram obtidas quando um volume de 250 mL foi utilizado. Da mesma forma, a resposta máxima para 9,10-AQ (Figura 2.11B) e 9,10-PQ (Figura 2.11D) foi obtida utilizando-se 250 mL da solução. Nenhuma diferença significativa foi observada na resposta da 1,4-NQ quando se utilizou um volume de 200 mL ou 250 mL (Figura 2.11C). Assim, um volume de amostra de 250 mL foi empregado neste estudo, uma vez que não levou a uma saturação de massa do sorvente.

Figura 2.11 – Avaliação do volume da amostra. As respostas são dadas em áreas de pico para: (A) HPAs, (B, C e D) quinonas e (E e F) nitro-HPAs.



2.3.4 Validação e avaliação da eficiência do procedimento analítico

Para validação (no laboratório) do procedimento analítico desenvolvido foram avaliadas as figuras de mérito mostradas na Tabela 2.6. As curvas analíticas para todos os compostos apresentaram valores adequados de R^2 variando de 0,9900 (Indene) a 0,9980 (1,4-NQ).

Os LDs para os HPAs foram mais baixos em comparação com os nitro-HPAs e as quinonas, variando de $0,0008 \mu\text{g L}^{-1}$ (Phe) a $0,0015 \mu\text{g L}^{-1}$ (Indene). Os valores de LQ variaram de $0,0027 \mu\text{g L}^{-1}$ a $0,0050 \mu\text{g L}^{-1}$ para esses mesmos HPAs. Em relação as quinonas, os valores de LD variaram de $1,12 \mu\text{g L}^{-1}$ (1,4-NQ) a $1,70 \mu\text{g L}^{-1}$ (9,10-AQ), enquanto os valores de LQ variaram de $3,72 \mu\text{g L}^{-1}$ a $5,67 \mu\text{g L}^{-1}$ para estes mesmos compostos. Quanto aos nitro-HPAs, os valores de LD variaram de $0,30 \mu\text{g L}^{-1}$ (2-NFlu) a $0,50 \mu\text{g L}^{-1}$ (2-NBP) e os valores de LQ variaram de $0,79 \mu\text{g L}^{-1}$ (2-NNap) a $1,68 \mu\text{g L}^{-1}$ (2-NBP).

Como pode observado na comparação dos parâmetros analíticos da Tabela 2.7, os LD e LQ obtidos neste estudo foram mais baixos do que aqueles obtidos por Santos et al. (2017), que também determinaram HPAs, nitro-HPAs e quinonas em amostras de água empregando SDME. Os LDs e LQs obtidos neste estudo também foram inferiores aos obtidos por Benedetti, Di Carro e Magi (2019). Esses autores determinaram 16 HPAs prioritários em amostras de água usando polímeros molecularmente impressos e relataram LDs e LQs variando de $0,030 \mu\text{g L}^{-1}$ a $0,750 \mu\text{g L}^{-1}$ e de $1,25 \mu\text{g L}^{-1}$ a $2,50 \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente (BENEDETTI; DI CARRO; MAGI, 2019). No entanto, os LDs e LQs obtidos no presente estudo foram bastante similares aos reportados por Rocio – Bautista et al. (2016), que empregou um método D- μ -SPE para a extração de oito HPAs de elevada massa molar e relatou valores de LDs e LQs variando de $0,0008$ a $0,0046 \mu\text{g L}^{-1}$ e $0,0027$ a $0,004 \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente (ROCÍO-BAUTISTA *et al.*, 2016). Vale a pena mencionar que a maioria dos estudos citados investigou apenas os HPAs prioritários (SABUROUH; JABBARI; PARASTAR, 2020; SAMANIPOUR *et al.*, 2018; WEI, S. *et al.*, 2017; ZHANG, Y. *et al.*, 2017) ou alguns derivados, como nitro-HPAs (REYES-GALLARDO *et al.*, 2013), enquanto que o presente trabalho considerou simultaneamente HPAs, nitro-HPAs e quinonas.

Tabela 2.6 – Parâmetros de validação do procedimento analítico (continua).

HPAs	Linearidade		Regressão	Precisão (RSD %)		Eficiência			
	Faixa linear ($\mu\text{g L}^{-1}$)	R^2	$y = ax_{(\pm Sa)} + b_{(\pm Sb)}$	Intradia	Inter-dias	LD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LQ ($\mu\text{g L}^{-1}$)	$FC^b_{(Max=500)}$	RE^c
				(n=5)	(n=15)				
Nap	0,0034 – 0,070	0,9955	$y = 263,52C_{(\pm 4,59)} + 487,17_{(\pm 88,9)}$	1,03	6,60	0,0010	0,0034	213	42,6
Acy	0,0037 - 0,070	0,9940	$y = 412,25C_{(\pm 7,35)} + 731,07_{(\pm 153)}$	5,08	11,5	0,0011	0,0037	267	53,4
Ace	0,0032 – 0,070	0,9963	$y = 368,22C_{(\pm 5,45)} + 405,91_{(\pm 119)}$	7,33	13,3	0,0010	0,0032	382	76,4
Flu	0,0030 - 0,070	0,9962	$y = 395,78C_{(\pm 5,64)} + 223,08_{(\pm 117)}$	2,88	12,2	0,0009	0,0030	497	99,4
Phe	0,0027 - 0,070	0,9972	$y = 575,4C_{(\pm 5,64)} + 772,96_{(\pm 153)}$	4,21	13,7	0,0008	0,0027	407	81,4
Ant	0,0039 - 0,070	0,9951	$y = 657,13C_{(\pm 11,43)} + 278,11_{(\pm 254)}$	4,01	11,9	0,0012	0,0039	461	92,2
Flt	0,0034 - 0,070	0,9955	$y = 475,99C_{(\pm 7,57)} + 434,89_{(\pm 162)}$	3,24	13,4	0,0010	0,0034	450	90,0
Flu-d10 ^a	0,0034 – 0,070	0,9949	$y = 492C_{(\pm 8,12)} + 854,36_{(\pm 169)}$	5,68	14,9	-	-	-	-
Pyr-d10 ^a	0,0024 – 0,070	0,9977	$y = 468,04C_{(\pm 8,12)} + 708,89_{(\pm 169)}$	2,80	8,61	-	-	-	-
Pyr	0,0030 - 0,070	0,9964	$y = 528,13C_{(\pm 7,47)} + 38,966_{(\pm 159)}$	3,89	14,6	0,0009	0,0030	280	56,0
BaA	0,0041 - 0,070	0,9919	$y = 302,56C_{(\pm 6,64)} + 515,79_{(\pm 124)}$	5,16	17,4	0,0012	0,0041	330	66,0
Cry	0,0040 - 0,070	0,9931	$y = 312,17C_{(\pm 6,49)} + 507,5_{(\pm 124)}$	4,25	16,1	0,0012	0,0040	371	74,2
BbF	0,0048 - 0,070	0,9910	$y = 297,6C_{(\pm 6,89)} + 563,35_{(\pm 143)}$	4,01	17,1	0,0014	0,0048	351	70,2
BaP	0,0032 - 0,070	0,9964	$y = 244,37C_{(\pm 3,79)} + 322,21_{(\pm 79,05)}$	3,38	16,9	0,0010	0,0032	361	72,2
Indene	0,0050 - 0,070	0,9900	$y = 199,38C_{(\pm 5,16)} + 294_{(\pm 100)}$	5,81	17,3	0,0015	0,0050	373	74,6
DbA	0,0041 - 0,070	0,9933	$y = 217,38C_{(\pm 4,31)} + 254,89_{(\pm 89,6)}$	3,83	21,8	0,0012	0,0041	382	76,4

Tabela 2.6 – Parâmetros de validação do procedimento analítico (continua).

	Linearidade		Regressão	Precisão (RSD %)				Eficiência	
	Faixa linear ($\mu\text{g L}^{-1}$)	R^2	$y = ax(\pm S_a) + b(\pm S_b)$	Intradia	Inter-dias	LD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LQ ($\mu\text{g L}^{-1}$)	FC ^b	RE ^c
				(n=5)	(n=15)				
HPAs									
BgP	0,0045 - 0,070	0,9914	$y = 284,76C_{(\pm 6,45)} + 503,74_{(\pm 128)}$	3,46	17,8	0,0013	0,0045	462	92,4
Cor	0,0034 - 0,070	0,9950	$y = 213,69C_{(\pm 3,89)} + 373,79_{(\pm 71,95)}$	3,52	14,1	0,0010	0,0034	334	66,8
Quinonas									
9,10-AQ	5,67 - 50	0,9929	$y = 7525,3C_{(\pm 150,5)} - 11092_{(\pm 4218)}$	3,98	13,8	1,70	5,67	254	50,8
1,4-NQ	3,72 - 50	0,9980	$y = 1210,2C_{(\pm 23,3)} - 1838,2_{(\pm 653)}$	4,42	10,9	1,12	3,72	39	7,8
9,10-PQ	4,90 - 50	0,9957	$y = 81,313C_{(\pm 2,41)} - 1474,8_{(\pm 118)}$	4,65	6,82	1,48	4,90	90	18
Nitro-HPAs									
1-NNap	1,23 - 11,0	0,9930	$y = 2909,1C_{(\pm 61)} + 905,58_{(\pm 358)}$	2,82	10,4	0,37	1,23	238	47,6
1-Methyl-4-NNap	1,19 - 11,0	0,9934	$y = 5210,2C_{(\pm 105)} - 927,19_{(\pm 618)}$	2,93	12,1	0,36	1,19	295	59,0
2-NNap	0,79 - 11,0	0,9967	$y = 3615,1C_{(\pm 53,3)} - 1158,3_{(\pm 288)}$	3,95	10,5	0,24	0,79	236	47,2
2-NBP	1,68 - 11,0	0,9917	$y = 594,26C_{(\pm 15,7)} - 483,15_{(\pm 99,8)}$	4,97	9,17	0,50	1,68	122	24,4
1-Methyl-5-NNap	1,17 - 11,0	0,9930	$y = 4166,4C_{(\pm 90,3)} - 1477,7_{(\pm 487)}$	3,03	10,5	0,35	1,17	282	56,4
1-Methyl-6-NNap	1,18 - 11,0	0,9928	$y = 2918,3C_{(\pm 64,1)} - 1404,8_{(\pm 346)}$	4,13	10,7	0,36	1,18	272	54,4

^aPadrões deuterados; ^bFC: Fator de pré-concentração ($FC_{\text{max}} = 500$); ^cRE (%): recuperação da extração. Sa: desvio padrão do coeficiente angular da curva. Sb: desvio padrão do coeficiente linear. C: coeficiente angular da curva analítica.

Tabela 2.6 – Parâmetros de validação do procedimento analítico (conclusão).

	Linearidade		Regressão	Precisão (RSD %)				Eficiência	
	Faixa linear ($\mu\text{g L}^{-1}$)	R^2	$y = ax(\pm S_a) + b(\pm S_b)$	Intradia (n=5)	Inter-dias (n=15)	LD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LQ ($\mu\text{g L}^{-1}$)	$FC^b_{(\text{Max}=500)}$	RE^c
Nitro-HPAs									
2-Methyl-4-NNap	1,26 - 11,0	0,9919	$y = 4438,9C_{(\pm 103)} - 1636_{(\pm 560)}$	4,71	11,6	0,38	1,26	275	55,0
3-NBP	1,36 - 11,0	0,9905	$y = 7377,1C_{(\pm 186)} - 2617_{(\pm 1004)}$	4,68	11,6	0,41	1,36	280	56,0
4-NBP	1,37 - 11,0	0,9904	$y = 4578,2C_{(\pm 116)} - 1603,7_{(\pm 6268)}$	5,88	11,8	0,41	1,37	269	53,8
5-NAce	1,26 - 11,0	0,9918	$y = 2598,2C_{(\pm 60,8)} - 767,9_{(\pm 328)}$	3,93	10,7	0,38	1,26	257	51,4

^aPadrões deuterados; ^bFC: Fator de pré-concentração ($FC_{\text{max}} = 500$); ^cRE (%): recuperação da extração.

Tabela 2.7 – Comparação dos parâmetros analíticos do procedimento desenvolvido com outros estudos publicados.

Compostos	Sorvente/solvente de dessorção	TTE (min)	RSD (%)	FC	LD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Referências
16 HPAs	Zeólita tratada/n-hexano	26	0,03 - 6,49	-	0,01 - 0,92	(SLOBODAN <i>et al.</i> , 2018)
7 HPAs	Nanotubo de carbono/tolueno	30	4,8 - 6,3	44,7 – 49,3	0,6 - 3,0	(YAZDANPANA; NOJAVAN, 2019)
6 nitro-HPAs	Micropartículas poliméricas OASIS MCX e ferrita de cobalto/ACN	2	4,4 - 9,5	161 – 292	0,11 - 1,26	(REYES-GALLARDO <i>et al.</i> , 2013)
4 HPAs	Nonpartículas magnéticas-nylon 6/acetona	32	3,4 - 6,8	18,1 – 39,7	0,05 - 0,58	(REYES-GALLARDO <i>et al.</i> , 2014)
8 HPAs	MOF (HKUST-1 e Fe_3O_4)/ACN	12	3,5 - 9,0	-	0,0008 - 0,0046	(ROCÍO-BAUTISTA <i>et al.</i> , 2016)
16 HPAs	Accurel PP S6/n-hexano	60	11,6	45 – 163	0,00021 - 0,82	(LÓPEZ-LÓPEZ <i>et al.</i> , 2017)
18 HPAs, 5 quinonas, 29 nitro-HPAs	Tolueno	30	2,25 - 19	97 - 175	0,01 - 0,03(HPAs); 6,96 - 468 (quinonas); 0,26 -1,07 (nitro-HPAs)	(SANTOS, L. O. <i>et al.</i> , 2017)
16 HPAs, 3 quinonas, 11 nitro-HPAs	C_{18} /n-hexano	52	1,03 - 7,33	39 - 497	0,0008 - 0,0015 (HPAs); 1,12 - 1,70 (quinonas); 0,30 - 0,50 (nitro-HPAs)	Presente estudo

TTE, tempo total de extração (extração + dessorção). FC, fator de pré-concentração.

Em relação à precisão do método (Tabela 2.6), foram obtidos valores de precisão intra-dia (n=5) variando de 1,03% (Nap) a 7,33% (Ace) para todos os compostos. Esses valores foram inferiores aos determinados por Zhang et al. (2018), que obteve RSD na faixa de 3,8–8,1%, e foram mais elevados do que aqueles obtidos por Slobodan et al. (2018), que obteve valores de 0,03–6,49% para HPAs como Nap e Acy, respectivamente (SLOBODAN *et al.*, 2018; ZHANG, N. *et al.*, 2018). Os valores RSD para precisão inter-dias (total de 15 injeções em 3 dias consecutivos) variaram de 6,60% (Nap) a 17,4% (BaA), exceto para (DbA), que apresentou um valor RSD ligeiramente superior a 20%.

Para avaliar quantitativamente a eficiência da extração, ou seja, a quantidade do analito que é extraída da amostra de água pelo sorvente e pré-concentrada no solvente orgânico após a dessorção, foram utilizados dois parâmetros: o FC e a RE (Tabela 2.6). Em relação aos HPAs, valores razoáveis de FC e RE foram obtidos para Nap, Acy, Pyr, BaA e Cor. Esses valores variaram de 213 (Nap) a 334 (Cor) com RE variando de 42,6 % a 66,8 % para estes mesmos compostos. Em contrapartida, valores de FC e RE mais elevados foram obtidos para os demais HPAs, os quais variaram de 351 (BbF) a 497 (Flu) e de 70,2 % a 99,4 % para estes mesmos HPAs, respectivamente. Os valores mais elevados de FC e RE para os HPAs podem ser justificados considerando o elevado valor do coeficiente de partição ($\log K_{ow}$) destes compostos, o que favorece as interações hidrofóbicas dos anéis aromáticos com a grande cadeia alquila do C₁₈.

Diferente dos HPAs, as quinonas apresentaram valores de FC e RE mais baixos. O FC variou de 39 (1,4-NQ) a 254 (9,10-AQ), que refletiu em valores de RE variando de 7,8 % a 50,8 % para estes mesmos compostos. Esses baixos valores de FC e RE estão relacionados com o caráter mais polar destas quinonas. Como mostrado na Tabela 1.5, o valor do $\log K_{ow}$ da 1,4-NQ e 9,10-PQ é de 1,71 e 2,52, respectivamente. Alguns estudos mostram que o C₁₈ perde bastante eficiência na retenção de compostos com $\log K_{ow} < 2$, levando a baixos valores de RE mesmo quando um volume mais elevado de amostra é utilizado (PICHON, 2000). Uma vez que a 9,10-PQ tem um caráter mais hidrofóbico ($\log K_{ow} = 3,39$), esta quinona foi mais fortemente retida pelo C₁₈, apresentando valor de FC igual a 254 (ER = 50,8 %).

Os valores de FC para os nitro-HPAs variaram de 122 (2-NBP) a 295 (1-Methyl-4-NNap), resultando em valores de RE na faixa de 24,4 % a 59,0 % para estes mesmos nitro-HPAs. Embora os nitro-HPAs apresentem em sua estrutura um substituinte $-\text{NO}_2$, o qual aumenta pontualmente a polaridade da molécula, estes compostos são moderadamente hidrofóbicos e apresentam $\log K_{ow}$ variando de 3,19 (1-NNap) a 3,85 (5-NAce). Deste modo, é esperado que ocorra uma maior sorção destes compostos em C_{18} do que se comparado às quinonas. A presença de substituintes alquilas no anel aromático também contribui para o aumento da sorção no sorvente, principalmente devido as interações hidrofóbicas entre os grupos alquilas. Isso leva a maiores valores de FC e ER. O 1-NNap, que possui um substituinte metila no anel aromático, apresentou FC e ER de 238 e 47,6 %, respectivamente, enquanto que o 1-Methyl-4-NNap, 1-Methyl-5-NNap e 1-Methyl-6-NNap apresentaram valores de FC acima de 272 e RE acima de 54 %.

Em relação a exatidão, foram obtidos valores de recuperação variando de 73,6% (BgP) a 120 % (Nap) ($\text{RSD} \leq 29 \%$) para a maioria dos HPAs no nível mais baixo de concentração na amostra de água doce (Tabela 2.8). Em contrapartida, Flu, BaA, Cry, BaP e DbA apresentaram recuperações abaixo de 70 %. No entanto, nos níveis de concentração mais elevados, como $0,04 \mu\text{g L}^{-1}$ e $0,07 \mu\text{g L}^{-1}$, foram obtidos valores de recuperação aceitáveis para todos os HPAs, exceto DbA que se manteve abaixo de 70 % (Tabela 2.8). Os baixos valores de recuperação podem ser atribuídos ao baixo nível de concentração do DbA na amostra contaminada e também à complexidade da amostra, uma vez que a amostra de água de rio apresentou uma quantidade significativa de matéria orgânica dissolvida, a qual pode ter contribuído para uma redução da concentração dos HPAs devido a sorção nos compostos orgânicos dissolvidos. Em relação às recuperações em água do mar, os valores para os HPAs variaram de 79,3 % (DbA) a 107 % (Nap) (Tabela 2.8). Apesar da maior complexidade da amostra de água do mar em relação a amostra de água de rio, foram obtidos valores de recuperação similares entre essas duas matrizes. Durante a etapa de filtração da amostra, o sorvente é lavado várias vezes com água ultrapura, o que auxilia na remoção do excesso de sal e de outros sólidos.

Os valores de recuperação para as quinonas e nitro-HPAs em água de rio variaram de 65,3% (9,10-PQ) a 95,3% (9,10-AQ) ($\text{RSD} \leq 15,6\%$) e de 68,9% (2-NFlu) a 124% (1-Methyl-6-NNap) ($\text{RSD} \leq 9,8\%$), respectivamente (Tabela 2.8). Em relação

às recuperações em água do mar, foram obtidos valores na faixa de 66,0 (1,4-AQ) – 106 % (9,10-PQ) para quinonas, os quais foram considerados aceitáveis considerando-se a complexidade da amostra. Em relação aos nitro-HPAs, as recuperações variaram de 60% (2-NFlu) a 75% (2-NBP) na menor concentração (1,5 $\mu\text{g L}^{-1}$). Isso pode ser atribuído à alta complexidade das amostras marinhas combinada com as baixas concentrações desses compostos na amostra contaminada (RIBANI *et al.*, 2004; SANTOS *et al.*, 2017). Em contrapartida, todos os valores de recuperação foram superiores a 88 % no maior nível de concentração para estes compostos.

Tabela 2.8 – Recuperações relativas de HPAs, nitro-HPAs e quinonas. Os resultados são expressos em média (n = 3) e desvio padrão relativo (RSD%) (continua).

	Água doce			Água do mar		
	Nível 1	Nível 2	Nível 3	Nível 1	Nível 2	Nível 3
CPAs	Adição 0,01 µg L ⁻¹	Adição 0,04 µg L ⁻¹	Adição 0,07 µg L ⁻¹	Adição 0,01 µg L ⁻¹	Adição 0,04 µg L ⁻¹	Adição 0,07 µg L ⁻¹
HPAs	Média ± RSD					
Nap	120 ± 29	113 ± 4	84,1 ± 1,5	97,5 ± 2,2	107 ± 3	101 ± 1,1
Acy	99,7 ± 13,6	89,8 ± 6,8	103 ± 0	101 ± 2	98,4 ± 2,8	101 ± 1,9
Ace	89,5 ± 13,8	78,3 ± 5,7	78,9 ± 8,3	95,4 ± 7,6	99,9 ± 5,1	101 ± 1,3
Flu	66,1 ± 15,9	87,5 ± 6,1	104 ± 3,3	80,6 ± 1,9	95,2 ± 3,6	100 ± 1,1
Phe	88,1 ± 1,1	76,6 ± 5,4	89,5 ± 2,7	104 ± 2,0	105 ± 5	98,4 ± 0,7
Ant	88,0 ± 3,9	89,2 ± 6,7	97,5 ± 0,9	93,5 ± 1,9	101 ± 8	100 ± 0,5
Flt	80,2 ± 5,2	91,4 ± 5,0	99,8 ± 2,2	96,7 ± 1,3	102 ± 4	100 ± 0,7
Pyr	102 ± 8	99,7 ± 5,2	107 ± 3	88,1 ± 1,3	101 ± 5	100 ± 0,8
Flu-d ₁₀	70,3 ± 12,6	90,4 ± 6,5	95,9 ± 2,1	94,0 ± 2,2	92,7 ± 4,9	100 ± 0,7
Pyr-d ₁₀	119 ± 8,8	108 ± 6	158 ± 2	95,8 ± 2,1	97,1 ± 4,9	99,3 ± 0,8
BaA	65,6 ± 7,8	100 ± 3,4	107 ± 3	86,9 ± 0,6	94,7 ± 5,7	100 ± 0,8
Cry	68,3 ± 19	102 ± 4,1	110 ± 4	89,9 ± 1,3	94,8 ± 5,8	100 ± 0,9
BbF	77,8 ± 11,1	88,3 ± 4,0	103 ± 5	89,4 ± 3,1	87,4 ± 7,6	98,3 ± 1,6
BaP	59,1 ± 12,3	83,5 ± 10,8	102 ± 2	87,9 ± 3,5	85,0 ± 7,0	100 ± 1,5
Ind	93,1 ± 1,3	102 ± 5	106 ± 4	84,7 ± 3,3	79,5 ± 14,3	98,3 ± 1,5
DbA	52,9 ± 2,5	63,9 ± 6,1	69,0 ± 9,9	79,3 ± 5,6	77,1 ± 14,4	97,6 ± 3,5
BgP	73,6 ± 6,2	85,8 ± 5,2	107 ± 3	84,7 ± 2,5	83,6 ± 8,0	98,6 ± 1,2
Cor	74,9 ± 4,2	82,0 ± 0,7	106 ± 1	82,7 ± 3,8	82,8 ± 19,0	91,4 ± 8,2

Tabela 2.8 – Recuperações relativas de HPAs, nitro-HPAs e quinonas. Os resultados são expressos em média (n=3) e desvio padrão relativo (RSD%) (conclusão).

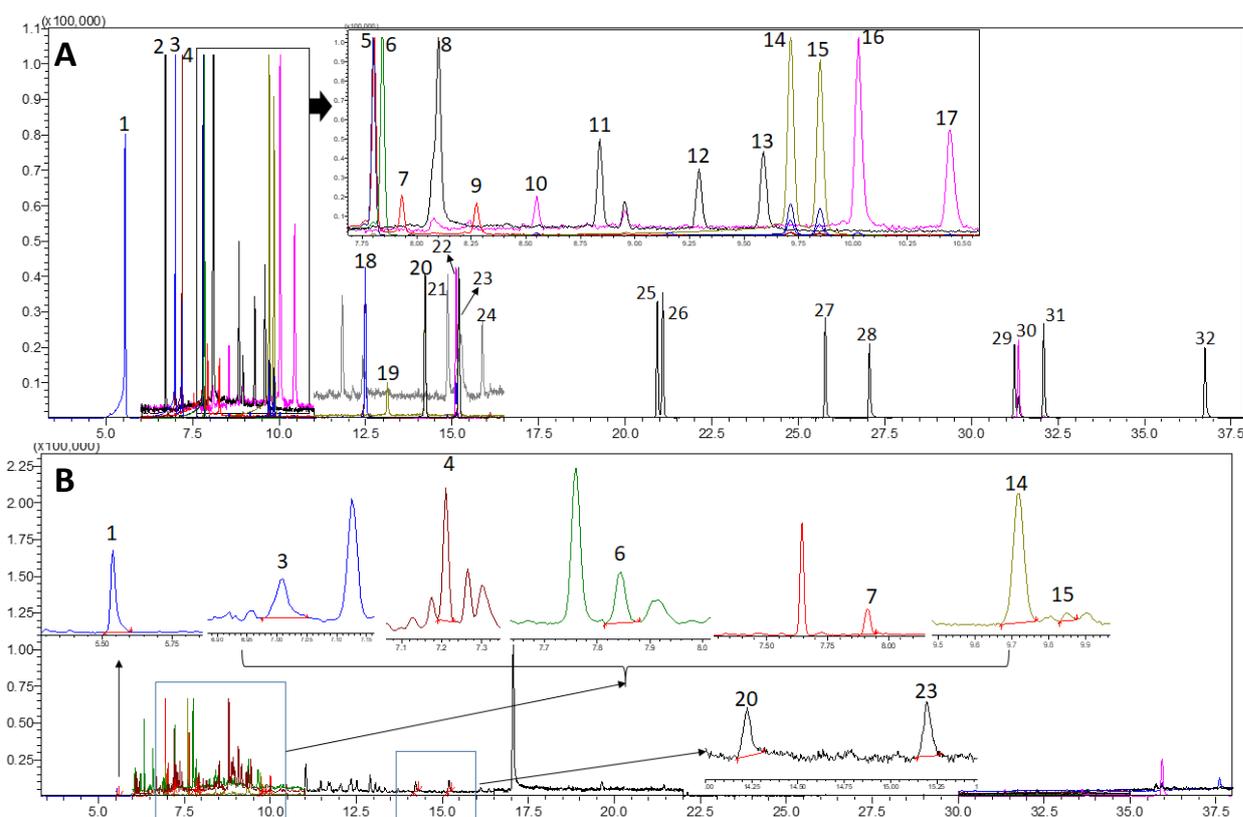
	Água doce			Água do mar		
	Nível 1	Nível 2	Nível 3	Nível 1	Nível 2	Nível 3
Quinonas	Adição	Adição	Adição	Adição	Adição	Adição
	30 µg L ⁻¹	40 µg L ⁻¹	50 µg L ⁻¹	30 µg L ⁻¹	40 µg L ⁻¹	50 µg L ⁻¹
9,10-AQ	72,9 ± 15,6	87,0 ± 14,8	95,3 ± 5,5	82,1 ± 1,2	102 ± 3	99,5 ± 0,9
1,4-NQ	67,7 ± 7,4	79,6 ± 15,0	84,3 ± 3,4	66,0 ± 1,9	82,6 ± 3,3	100 ± 1
9,10-PQ	65,3 ± 2,0	71,2 ± 5,1	73,7 ± 4,6	106 ± 15	114 ± 3	106 ± 8
Nitro-HPAs	Adição	Adição	Adição	Adição	Adição	
	1,5 µg L ⁻¹	5,0 µg L ⁻¹	11 µg L ⁻¹	1,5 µg L ⁻¹	5,0 µg L ⁻¹	NT*
1-NNap	90,6 ± 7,5	111 ± 0,9	101 ± 0,2	70,0 ± 0,2	98,9 ± 8,7	-
1-Methyl-4-NNap	78,5 ± 2,1	96,3 ± 2,5	107 ± 2,7	69,2 ± 2,5	98,6 ± 10,3	-
2-NNap	85,9 ± 1,9	109 ± 0,3	101 ± 2,3	68,8 ± 0,2	92,2 ± 9,6	-
2-NBP	113 ± 5,4	90,0 ± 0,7	120 ± 2,7	75,0 ± 2,9	93,0 ± 7,4	-
1-Methyl-5-NNap	87,9 ± 4,8	107 ± 0,5	122 ± 2,7	68,2 ± 0,3	92,5 ± 8,8	-
1-Methyl-6-NNap	87,6 ± 3,9	106 ± 0,6	124 ± 1,8	70,5 ± 1,2	92,1 ± 9,1	-
2-Methyl-4-NNap	87,4 ± 4,8	110 ± 1,7	117 ± 1,1	66,8 ± 0,7	88,3 ± 9,4	-
3-NBP	86,9 ± 3,8	112 ± 1,0	118 ± 1,3	64,3 ± 2,3	92,4 ± 9,4	-
4-NBP	82,7 ± 3,8	109 ± 1,5	102 ± 2,1	65,4 ± 1,6	92,5 ± 9,4	-
5-NAce	74,2 ± 4,7	102 ± 4,1	93,5 ± 9,8	62,3 ± 1,5	97,8 ± 10,1	-
2-NFlu	68,9 ± 6,7	91,1 ± 4,0	83,9 ± 2,7	60,1 ± 1,9	91,0 ± 11,2	-

NT* = nível não testado.

2.3.5 Aplicação do procedimento desenvolvido em amostras reais

O procedimento desenvolvido foi aplicado na determinação de HPAs, nitro-HPAs e quinonas em nove amostras de água (água doce e água do mar). Um cromatograma de uma amostra de água real é mostrado na Figura 2.12B e comparada com um padrão contendo todos os analitos, injetado diretamente (Figura 2.12A).

Figura 2.12 – Cromatograma de GC-MS (SIM) obtido de uma solução padrão mista contendo HPAs, nitro-HPAs e quinonas na concentração de 70 µg L⁻¹, 200 µg L⁻¹ e 1000 µg L⁻¹, respectivamente.



[1]Nap (5,55 min), [2]1,4-NQ (6,72 min), [3]Acy (7,01 min), [4]Ace (7,20 min), [5]Flu-d₁₀ (7,80 min), [6]Flu (7,84 min), [7]1-NNap (7,93 min); [8]1-Methyl-4-NNap (8,11 min), [9]2-NNap (8,28 min), [10] 2-NBP (8,56 min), [11]1-Methyl-5-NNap (8,85 min)); [12]1-Methyl-6-NNap (9,29 min); [13]2-Methyl-4-NNap (9,58 min);[14]Phe (9,73 min);[15]Ant (9,87 min); [16]3-NBP (10,03 min); [17] 4-NBP (10,44 min); [18] 9,10-AQ (12,51 min), [19] 5-NAce (13,14 min); [20]Flt (14,25 min); [21] 2-NFlu (14,87 min); [22] Pyr-d₁₀ (15,11 min); [23]Pyr (15,22 min); [24] 9,10-PQ (16,10 min); [25]BaA(20,96 min); [26]Cry (21,11 min); [27]BbF (25,81 min); [28]BaP(27,06 min); [29]Indene (31,27 min); [30] DbA (31,39 min); BgP (32,10 min) [31]; Cor (36,75 min) [32].

Uma das amostras foi intencionalmente contaminada com 200 mg de Diesel S10 (Petrobrás, Brasil), visando simular um evento de contaminação com vazamento de combustíveis em uma amostra de água do mar (PASCALE *et al.*, 2018). Como

pode ser observado na Tabela 2.9A, quase todos os HPAs foram detectados na amostra de água contaminada com diesel em concentrações variando de 4,54 ng L⁻¹ (BbF) a 1070 ng L⁻¹ (Pyr), o que está de acordo com os valores de solubilidade destes compostos em água (Tabela 1.5). Os HPAs de baixa massa molar foram detectados com concentrações elevadas, as quais variaram de 63,8 ng L⁻¹ a 719 ng L⁻¹. Em contrapartida, os HPAs com massa molar mais elevada, como o BaP, DaA e o Cor foram detectados abaixo do LQ, com exceção do Pyr, que foi detectado em uma concentração acima de 1000 ng L⁻¹. Essa tendência está de acordo com o reportado por De Souza e Corrêa (2016) a respeito das concentrações de HPAs no diesel brasileiro (SOUZA; CORRÊA, 2016).

A Tabela 2.9B mostra a faixa de concentração dos CPAs encontrados nas amostras analisadas. Os HPAs de baixa massa molar foram encontrados com mais frequência em amostras de água salgada e em água doce. As concentrações destes HPAs nas amostras variaram de <LD a 38,4 ng L⁻¹ (Phe). Conforme observado nos dados da Tabela 1.5, esses compostos são mais solúveis em água do que os HPAs de elevada massa molar e seus derivados nitrados e, portanto, podem ser encontrados com mais frequência nos corpos d'água de regiões com intenso tráfego de navios e/ou pequenas embarcações, como a BTS (BANDOWE; MEUSEL, 2017). Embora o Nap tenha sido encontrado em todas as amostras de água analisadas, seu derivado nitrado 1-NNap foi detectado em concentrações abaixo do LQ. Isso pode ser explicado considerando-se que a introdução de um grupo -NO₂ no anel aromático do Nap leva a um acréscimo na massa molar, contribuindo para um decréscimo na solubilidade (BANDOWE; MEUSEL, 2017). Assim, embora Nap seja moderadamente solúvel (31 mg L⁻¹) em água, a solubilidade de 1-NNap é aproximadamente 3,4 vezes menor (9,18 mg L⁻¹).

Não foram detectados HPAs de elevada massa molar nas amostras analisadas de água do mar, exceto BaA e Cry, que foram detectados em concentrações abaixo do LQ. Isso porque, o caráter altamente lipofílico desse composto e sua baixa solubilidade em água faz com que este composto seja predominantemente acumulado em sedimentos (OLIVEIRA; SANTOS; DE ANDRADE, 2018) e organismos marinhos (SOLA *et al.*, 2020). No entanto, uma parte significativa destes HPAs de elevada massa molar foi detectada em uma amostra de poço (AR4), coletada na zona rural de um município da região metropolitana de Salvador. As concentrações variaram de

<LQ a 52,4 ng L⁻¹ (Pyr). Em relação às quinonas, apenas 9,10-AQ foi encontrada na amostra contaminada com diesel, enquanto 9,10-PQ foi detectada em uma amostra de água do mar.

O Anexo XX da Portaria de Consolidação nº 5 do Ministério da Saúde de 03 de Outubro de 2017 estabelece os critérios de qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade (BRASIL, 2017). De acordo com essa portaria, os níveis toleráveis para BaP em água devem ser igual ou inferior a 700 ng L⁻¹. Contudo, neste trabalho, o BaP não foi detectado na maioria das amostras, sendo que somente na amostra AR4 (Tabela 2.9A) este HPA foi encontrado em concentrações abaixo do LQ.

A Tabela 2.9B apresenta uma comparação entre as concentrações dos HPAs determinadas neste trabalho com aquelas reportadas em trabalhos recentes, empregando outros procedimentos baseados na D- μ SPE e/ou baseados na SPE. De modo geral, a concentração dos CPAs encontradas neste trabalho foram inferiores às reportadas pelos autores citados na Tabela 2.9B. No entanto, deve-se salientar que as amostras analisadas por estes autores são de locais diferentes, alguns mais impactados, e portanto, não são diretamente comparáveis. Ainda assim, foi possível detectar a presença de derivados dos HPAs, como a 9,10-PQ e o 1-NNap, empregando o procedimento desenvolvido.

Tabela 2.9 – Concentração \pm desvio padrão de alguns HPAs (ng L^{-1}), nitro-HPAs ($\mu\text{g L}^{-1}$) e quinonas ($\mu\text{g L}^{-1}$) nas amostras de água analisadas (A). B) Faixa de concentração de HPAs, nitro-HPAs e quinonas nas amostras reais de água e comparação com estudos recentes (continua).

A)	Água do mar				Água doce				Amostra contaminada ^a
HPAs	AM1 (n=3)	AM2 (n=3)	AM3 (n=3)	AM4 (n=3)	AR1 (n=3)	AR2 (n=3)	AR3 (n=3)	AR4 (n=3)	ADC (n=6)
Nap	7,94 \pm 1,08	6,87 \pm 0,53	7,30 \pm 0,89	2,89 \pm 0,69*	3,10 \pm 0,26*	18,2 \pm 1,50	19,5 \pm 6,4	5,12 \pm 0,16	719 \pm 64,07 ^b
Acy	1,98 \pm 0,07*	nd	2,33 \pm 0,11*	2,42 \pm 0,08*	nd	nd	2,25 \pm 0,07*	1,06 \pm 0,01**	63,8 \pm 2,68
Ace	nd	nd	2,69 \pm 0,74*	nd	0,65 \pm 0,35**	13,1 \pm 1,52	4,91 \pm 1,34	1,21 \pm 0,03*	259 \pm 16 ^b
Flu	1,01 \pm 0,17*	0,67 \pm 0,04**	1,32 \pm 0,08*	1,14 \pm 0,06*	0,91 \pm 0,01*	11,4 \pm 1,0	1,55 \pm 0,21*	1,27 \pm 0,03*	380 \pm 18 ^b
Phe	nd	nd	0,13 \pm 0,03**	0,76 \pm 0,35**	nd	9,57 \pm 1,46	2,62 \pm 0,74*	38,4 \pm 0,43	578 \pm 51,8 ^b
Ant	nd	nd	nd	0,70 \pm 0,01**	nd	nd	nq ^a	5,70 \pm 0,04	164 \pm 13,3 ^b
Flt	1,51 \pm 0,06*	1,20 \pm 0,08*	1,27 \pm 0,12*	1,64 \pm 0,02*	1,25 \pm 0,07*	nd	1,65 \pm 0,10*	52,4 \pm 0,53	31,4 \pm 3,0
Pyr	0,74 \pm 0,15**	0,49 \pm 0,05**	0,42 \pm 0,06**	0,61 \pm 0,13**	0,44 \pm 0,01*	nd	0,85 \pm 0,02**	31,7 \pm 0,25	1070 \pm 109 ^b
BaA	1,96 \pm 0,01*	nd	nd	nd	nd	nd	nd	3,49 \pm 0,20*	4,9 \pm 0,2
Cry	0,82 \pm 0,00*	nd	nd	nd	nd	nd	nd	4,77 \pm 0,06	27,0 \pm 2,3
BbF	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	1,85 \pm 0,03*	4,54 \pm 0,22
BaP	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	1,91 \pm 0,04*	2,31 \pm 0,36*
InP	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
DaA	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	3,97 \pm 0,17*
BgP	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	2,06 \pm 0,16*	5,53 \pm 0,22
Cor	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	2,01 \pm 0,16*	3,12 \pm 0,21*
Quinonas									
9,10-AQ	nd	nd	nd	nd	nd	nd	1,50 \pm 0,003**	0,126 \pm 0,05**	7,70 \pm 0,7
9,10-PQ	19,8 \pm 0,28	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Nitro-HPAs									
1-Nnap	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0,42 \pm 0,07*	0,015 \pm 0,01*	nd

**Concentração <LD; * Concentração <LQ; ^aAmostras contaminadas por diesel; ^bValores que extrapolaram a faixa linear foram obtidos por diluição e reinjeção.

Tabela 2.9 –Concentração \pm desvio padrão de alguns HPAs (ng L^{-1}), nitro-HPAs ($\mu\text{g L}^{-1}$) e quinonas ($\mu\text{g L}^{-1}$) nas amostras de água analisadas (A). B) Faixa de concentração de HPAs, nitro-HPAs e quinonas nas amostras reais de água e comparação com estudos recentes (conclusão).

B)	Faixa de concentração (ng L^{-1})		UAMSPE (ng L^{-1}) ^a	d- μ -SPE (ng L^{-1}) ^b	d- μ -SPE (ng L^{-1}) ^c	SDME (ng L^{-1}) ^d
	Água do mar	Água de rio	Água produzida	Água de rio	Água do mar (Porto)	Rio, mar e subterrânea
HPAs (ng L^{-1})						
Nap	2,89* - 7,94	3,10* - 19,5		30,500 - 52,100	<LOQ - 970	150 - 700
Acy	nd - 2,42*	nd - 2,25*	-	-	nd	<LOD - 1,200
Ace	nd - 2,69*	0,65** - 13,1	-	nd - 42,000	nd	<LOD - 100
Flu	0,67** - 1,32*	0,91* - 11,4	-	14,000 - 73,800	nd	80 - 140
Phe	nd - 0,76**	nd - 38,4	-	nd-95,600	290 - 370	nd
Ant	nd - 0,70**	nd - 5,70	-	-	nd	nd - 140
Flt	1,20* - 1,64*	nd - 52,4	-	nd	nd	nd - 110
Pyr	0,42** - 0,74**	nd - 31,7	-	-	300 - 510	nd - <LOQ
BaA	nd - 1,96*	nd - 3,49*	1,620 - 1,660	nd	nd	nd - 100
Cry	-	nd - 4,77	-	-	-	nd - <LOQ
BbF	-	nd - 1,85*	630 - 60	-	-	-
BaP	-	nd - 1,91*	-	-	-	nd - <LOQ
BgP	-	nd - 2,06*	-	-	-	-
Cor	-	nd - 2,01*	-	-	-	-
Quinonas ($\mu\text{g L}^{-1}$)						
9,10-AQ	-	nd - 1,50**	-	-	-	nd
9,10-PQ	nd - 19,8	-	-	-	-	nd
Nitro-HPAs ($\mu\text{g L}^{-1}$)						
1-NNap	-	nd - 0,42*	-	-	-	-

**Concentração <LD; * Concentração <LQ; ^a(CAETANO *et al.*, 2019); ^b(YAZDANPANA; NOJAVAN, 2019); ^c(BENEDETTI; DI CARRO; MAGI, 2019); ^d(SANTOS, L. O. *et al.*, 2017).

2.3.6 Vantagens e desvantagens do procedimento desenvolvido

O procedimento desenvolvido apresentou vantagens interessantes em relação a redução do consumo de solventes orgânicos e reagentes. Embora o tempo total de extração tenha levado 52 min (extração de 32 min + dessorção de 20 min), o dispositivo de extração construído neste estudo permitiu que múltiplas extrações fossem realizadas e, deste modo, várias amostras puderam ser preparadas em cada batelada. Assim, um número de 5 a 10 amostras podem ser processadas por vez nestes 52 min, o que representa uma vantagem real quando comparado a SDME, onde que cada amostra é preparada individualmente e a injeção é manual na maioria dos casos (SANTOS et al. 2017; DOS ANJOS; DE ANDRADE, 2014). As etapas de dessorção, filtração e injeção foram realizadas no dispositivo de dessorção em microescala, o que contribuiu para a redução de etapas no preparo da amostra.

Para avaliar quantitativamente o quanto ambientalmente amigável (*greenness*) é o procedimento desenvolvido, nós empregamos um cálculo tomando como referência a Ecoescala Analítica proposta por Galuszka et al. (2012). Essa escala estabelece pontos (penalidades) que são descontados de um total de 100 (base). Quanto mais próximo de 100 é o escore, mais ambientalmente amigável é o procedimento analítico. De acordo com os parâmetros, o procedimento proposto obteve algumas penalidades, as quais foram distribuídas nas seguintes categorias: i) volume de solvente orgânico <10 mL e de sorvente <10 g, 1 ponto; ii) risco pouco severo em relação ao *n*-hexano, 1 ponto; iii) uso de GC-MS e banho de ultrassom para preparo e análise das amostras, consumo de energia maior que 1,5 kWh por amostra, 2 pontos; iv) perigo ocupacional, 3 pontos; v) geração de resíduos inferior a 1 mL ou 1 g, 1 ponto. Assim, levando-se em consideração o somatório das pontuações obtidas de todas as categorias, o procedimento proposto apresentou um escore de 92 pontos (valor base de 100 subtraído de 8 penalidades). Deste modo, é totalmente aceitável considerar este procedimento como sendo ambientalmente amigável.

Em contrapartida, o procedimento desenvolvido também apresentou algumas desvantagens, tais como: baixos valores de FC e ER para analitos mais polares; uso de um sorvente pouco seletivo, como o C₁₈ e volumes de amostra relativamente elevados.

2.4 CONCLUSÃO

Neste estudo, um procedimento simples e eficaz baseado no procedimento de extração em fase micro-sólida dispersiva foi desenvolvido com sucesso para a determinação abrangente e simultânea de HPAs, nitro-HPAs e quinonas. Um dispositivo de vidro customizado foi construído para melhorar a dispersão do sorvente e, conseqüentemente, a transferência de massa do analito da amostra para o sorvente durante a etapa de extração. Similarmente, foi possível adaptar um dispositivo comercial similar a um *vial* cromatográfico para realizar a etapa de micro-dessorção com 500 μL de *n*-hexano.

A otimização do tipo e da massa de sorventes mostrou que 100 mg de sorvente hidrofóbico como o C_{18} apresenta uma melhor eficiência na sorção da maioria dos HPAs, nitro-HPAs e quinonas em comparação com outros sorventes mais polares. As ferramentas de planejamento de experimentos foram aplicadas com sucesso na otimização das condições de extração dos CPAs. As condições de extração foram definidas como: adição de 2,9 % de NaCl, tempo de extração de 32 min e tempo de dessorção 20 min.

Após validação, o procedimento foi aplicado com sucesso na determinação de CPAs em amostras de água doce e de água do mar. Os HPAs foram detectados com maiores frequências em água doce e água do mar do que os seus derivados nitrado e oxigenados. As concentrações em água do mar variaram de <LD a 7,94 ng L^{-1} (Nap), enquanto que as concentrações em água doce variaram de <LQ a 52,4 ng L^{-1} (52,4 ng L^{-1}).

O procedimento apresentou vantagens como baixo consumo de reagentes e de solventes orgânicos. Além disso, permitiu um aumento na quantidade de amostras que puderam ser analisadas por batelada. Contudo, os baixos valores de FC e RE para alguns compostos mais polares, o uso de um sorvente pouco seletivo como o C_{18} e os volumes relativamente elevados de amostras foram as principais desvantagens do procedimento.

2.5 REFERÊNCIAS

AMIRI, A. et al. Synthesis of a zinc-based metal-organic framework with histamine as an organic linker for the dispersive solid-phase extraction of organophosphorus pesticides in water and fruit juice samples. **Journal of Chromatography A**, v. 1597, p. 39–45, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2019.03.039>>.

ANASTASSIADES, M. et al. Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and “dispersive solid-phase extraction” for the determination of pesticide residues in produce. **Journal of AOAC International**, v. 86, n. 2, p. 412–431, 2003.

ARIAS, P. G. et al. Selective solid-phase extraction of organophosphorus pesticides and their oxon-derivatives from water samples using molecularly imprinted polymer followed by high-performance liquid chromatography with UV detection. **Journal of Chromatography A**, 2020.

BANDOWE, B. A. M.; MEUSEL, H. Nitrated polycyclic aromatic hydrocarbons (nitro-PAHs) in the environment – A review. **Science of the Total Environment**, v. 581–582, p. 237–257, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.12.115>>.

BENEDETTI, B.; DI CARRO, M.; MAGI, E. Multivariate optimization of an extraction procedure based on magnetic molecular imprinted polymer for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in sea water. **Microchemical Journal**, v. 145, n. September 2018, p. 1199–1206, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.microc.2018.12.048>>.

BRASIL. Ministério da Saúde. Anexo XX da Portaria de Consolidação Nº 5 do Ministério da Saúde de 03 de Outubro de 2017. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2017/prc0005_03_10_2017.html>. Acesso em: 20 Mai. 2021.

CAETANO, V. C. L. B. et al. Magnetic hybrid support for ultrasound-assisted magnetic solid-phase extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons from produced water. **Microchemical Journal**, v. 146, n. October 2018, p. 1195–1203, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.microc.2019.02.055>>.

CHAHKANDI, M.; AMIRI, A.; ARAMI, S. R. S. Extraction and preconcentration of organophosphorus pesticides from water samples and fruit juices utilizing hydroxyapatite/Fe₃O₄ nanocomposite. **Microchemical Journal**, v. 144, n. May 2018, p. 261–269, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.microc.2018.09.018>>.

CHISVERT, A.; CÁRDENAS, S.; LUCENA, R. Dispersive micro-solid phase extraction. **TrAC-Trends in Analytical Chemistry**, v. 112, p. 226–233, 2019.

DOS ANJOS, J. P.; DE ANDRADE, J. B. Determination of nineteen pesticides residues (organophosphates, organochlorine, pyrethroids, carbamate, thiocarbamate

and strobilurin) in coconut water by SDME/GC-MS. **Microchemical Journal**, v. 112, p. 119–126, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.microc.2013.10.001>>.

EPA. **Method 610: Polynuclear aromatic hydrocarbons (1986)**. Disponível em: <https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-10/documents/method_610_1984.pdf>. Acesso em: 10 jun. 2018.

FARAJZADEH, M. A.; YADEGHARI, A.; KHOSH MARAM, L. Magnetic solid phase extraction using Fe₃O₄@SiO₂@C₈ nanoparticles performed in a narrow-bore tube followed by dispersive liquid–liquid microextraction for extraction and preconcentration of nine pesticides. **New Journal of Chemistry**, v. 42, p. 6215–6224, 2018. Disponível em: <<http://xlink.rsc.org/?DOI=C8NJ00501J>>.

FARAJZADEH, MIR ALI; YADEGHARI, A.; KHOSH MARAM, L. Combination of dispersive solid phase extraction and dispersive liquid-liquid microextraction for extraction of some aryloxy pesticides prior to their determination by gas chromatography. **Microchemical Journal**, v. 131, p. 182–191, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.microc.2016.12.013>>.

FERREIRA, S. L. C. **Introdução às técnicas de planejamento de experimentos**. 1 ed. Salvador: Vento Leste, 2015.

FERREIRA, S. Doehlert matrix: a chemometric tool for analytical chemistry -review. **Talanta**, v. 63, n. 4, p. 1061–1067, 2004. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0039914004000384>>.

FERREIRA, S. L. C. et al. Statistical designs and response surface techniques for the optimization of chromatographic systems. **Journal of Chromatography A**, v. 1158, n. 1–2, p. 2–14, 2007. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021967307005298>>.

GAŁUSZKA, A. et al. Analytical Eco-Scale for assessing the greenness of analytical procedures. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 37, p. 61–72, 2012.

GARCÍA-VALVERDE, M. T. et al. In-syringe dispersive micro-solid phase extraction using carbon fibres for the determination of chlorophenols in human urine by gas chromatography/mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1464, p. 42–49, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2016.08.036>>.

HUANG, Z.; KEE, H. Micro-solid-phase extraction of organochlorine pesticides using porous metal-organic framework MIL-101 as sorbent. **Journal of Chromatography A**, v. 1401, p. 9–16, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2015.04.052>>.

KHEZELI, T.; DANESH FAR, A. Development of dispersive micro-solid phase extraction based on micro and nano sorbents. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 89, p. 99–118, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.trac.2017.01.004>>.

LÓPEZ-LÓPEZ, J. A. et al. Solvent bar micro-extraction (SBME) based determination of PAHs in seawater samples. **Science of the Total Environment**, v. 598, p. 58–63, 2017.

MARCÉ, R. .; BORRULL, F. Solid-phase extraction of polycyclic aromatic compounds. **Journal of Chromatography A**, v. 885, n. 1–2, p. 273–290, 2000. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021967300004283>>.

MERCK. Whatman® Mini-UniPrep® G2 standard septum. Disponível em: <<https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/gn503npepp?lang=pt®ion=BR>>. Acesso em: 10 dez. 2020.

MITRA, S. **Sample Preparation Techniques in Analytical Chemistry**. New Jersey: Wiley-Interscience, 2003.

MOIDOVEANU, S. C.; DAVID, V. **Sample Preparation in Chromatography**. 1 ed. Amsterdã: Elsevier Science, 2002. v. 65. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0301477002800112>>.

NASCIMENTO, M.M.; DA ROCHA, G. O.; DE ANDRADE, J. B. A rapid low-consuming solvent extraction procedure for simultaneous determination of 34 multiclass pesticides associated to respirable atmospheric particulate matter (PM2.5) by GC–MS. **Microchemical Journal**, v. 139, p. 424–236, 2018.

NASCIMENTO, M. M.; DA ROCHA, G. O.; DE ANDRADE, J. B. Pesticides in fine airborne particles: from a green analysis method to atmospheric characterization and risk assessment. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 2267, 2017. Disponível em: <<http://www.nature.com/articles/s41598-017-02518-1>>.

NASIRI, M.; AHMADZADEH, H.; AMIRI, A. Sample preparation and extraction methods for pesticides in aquatic environments : A review. **TrAC-Trends in Analytical Chemistry**, v. 123, p. 1–26, 2020.

NOJAVAN, S.; YAZDANPANA, M. Micro-solid phase extraction of benzene, toluene, ethylbenzene and xylenes from aqueous solutions using water-insoluble β -cyclodextrin polymer as sorbent. **Journal of Chromatography A**, v. 1525, p. 51–59, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2017.10.027>>.

OLIVEIRA, S. L.; SANTOS, A. G.; DE ANDRADE, J. B. Methodology to examine polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) nitrated PAHs and oxygenated PAHs in sediments of the Paraguaçu River (Bahia , Brazil). **Marine Pollution Bulletin**, v. 136, n. September, p. 248–256, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.09.022>>.

PASCALE, R. et al. Method development and optimization for the determination of benzene, toluene, ethylbenzene and xylenes in water at trace levels by static headspace extraction coupled to gas chromatography–barrier ionization discharge detection. **Journal of Chromatography A**, v. 1548, p. 10–18, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2018.03.018>>.

PICHON, V. Solid-phase extraction for multiresidue analysis of organic contaminants in water. **Journal of Chromatography A**, v. 885, n. 1–2, p. 195–215, 2000.

PŁOTKA-WASYLKA, J. et al. Miniaturized solid-phase extraction techniques. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 73, p. 19–38, 2015.

PŁOTKA-WASYLKA, J. et al. Modern trends in solid phase extraction: New sorbent media. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 77, p. 23–43, 2016.

REYES-GALLARDO, E. M. et al. Hybridization of commercial polymeric microparticles and magnetic nanoparticles for the dispersive micro-solid phase extraction of nitroaromatic hydrocarbons from water. **Journal of Chromatography A**, v. 1271, n. 1, p. 50–55, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2012.11.040>>.

REYES-GALLARDO, E. M. et al. Magnetic nanoparticles-nylon 6 composite for the dispersive micro solid phase extraction of selected polycyclic aromatic hydrocarbons from water samples. **Journal of Chromatography A**, v. 1345, p. 43–49, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2014.04.033>>.

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

RIBANI, M.; COLLINS, C. H.; BOTTOLI, C. B. G. Validation of chromatographic methods: Evaluation of detection and quantification limits in the determination of impurities in omeprazole. *Journal of Chromatography A*, v. 1156, n. 1- 2 SPEC. ISS., p. 201–205, 2007.

ROCÍO-BAUTISTA, P. et al. A magnetic-based dispersive micro-solid-phase extraction method using the metal-organic framework HKUST-and ultra-high-performance liquid chromatography with fluorescence detection for determining polycyclic aromatic hydrocarbons in waters and fruit tea i. *Journal of Chromatography A*, v. 1436, p. 42–50, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2016.01.067>>.

SABUROUH, N.; JABBARI, A.; PARASTAR, H. An innovative chemometric approach for simultaneous determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in oil-contaminated waters based on dispersive micro-solid phase extraction followed by gas chromatography. **Microchemical Journal**, v. 159, n. August, p. 105407, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.microc.2020.105407>>.

SAMANIPOUR, S. et al. Assessing sample extraction efficiencies for the analysis of complex unresolved mixtures of organic pollutants: A comprehensive non-target approach. **Analytica Chimica Acta**, v. 1025, p. 92–98, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.aca.2018.04.020>>.

SAMCO. Guidance document on analytical quality control and validation procedures for pesticide residues analysis in food and feed. Disponível em: <http://www.eurl-pesticides.eu/library/docs/allcrl/AqcGuidance_Sanco_2013_12571.pdf>. Acesso em: 11 jul. 2018.

- SANTOS, A. G. et al. A simple, comprehensive , and miniaturized solvent extraction method for determination of particulate-phase polycyclic aromatic compounds in air. **Journal of Chromatography A**, v. 1435, p. 6–17, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2016.01.018>>.
- SANTOS, L. O. et al. Simultaneous determination of PAHS, nitro-PAHS and quinones in surface and groundwater samples using SDME/GC-MS. **Microchemical Journal**, v. 133, p. 431–440, 2017.
- SANTOS, W. P. C. et al. Application of multivariate optimization in the development of an ultrasound-assisted extraction procedure for multielemental determination in bean seeds samples using ICP OES. **Microchemical Journal**, v. 91, n. 2, p. 153–158, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.microc.2008.10.001>>.
- SENOZY, I. A. et al. Magnetic solid-phase extraction based on nano-zeolite imidazolate framework-8-functionalized magnetic graphene oxide for the quantification of residual fungicides in water, honey and fruit juices. **Food Chemistry**, v. 325, n. October 2019, p. 126944, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126944>>.
- SHAKOURIAN, M.; YAMINI, Y.; SAFARI, M. Facile magnetization of metal–organic framework TMU-6 for magnetic solid-phase extraction of organophosphorus pesticides in water and rice samples. **Talanta**, v. 218, n. January, p. 121139, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2020.121139>>.
- SLOBODAN, Ć. et al. Dispersive micro-solid phase extraction of 16 priority polycyclic aromatic hydrocarbons from water by using thermally treated clinoptilolite , and their quantification by GC-MS. **Microchimica Acta**, v. 2, p. 1–10, 2018.
- SOLA, M. C. R. et al. Occurrence of 3-nitrobenzanthrone and other powerful mutagenic polycyclic aromatic compounds in living organisms: polychaetes. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 1–12, 2020.
- SOUZA, C. V. DE; CORRÊA, S. M. Polycyclic aromatic hydrocarbons in diesel emission , diesel fuel and lubricant oil. **Fuel**, v. 185, p. 925–931, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.fuel.2016.08.054>>.
- SRIVASTAVA, P.; SREEKRISHNAN, T. R.; NEMA, A. K. Polyaromatic Hydrocarbons : Review of a Global Environmental Issue. **Journal of Hazardous, Toxic & Radioactive Waste**, v. 22, n. 3, 2018.
- TAN, D. et al. Phenyltrichlorosilane-functionalized magnesium oxide microspheres : Preparation , characterization and application for the selective extraction of dioxin-like polycyclic aromatic hydrocarbons in soils with matrix solid-phase dispersion. **Analytica Chimica Acta**, v. 956, p. 14–23, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.aca.2016.12.040>>.
- TEÓFILO, R. F.; FERREIRA, M. M. C. Quimiometria II: Planilhas eletrônicas para cálculos de planejamentos experimentais, um tutorial. **Química Nova**, v. 29, n. 2, p. 338–350, 2006.

THOMPSON, M.; ELLISON, S. L. R.; WOOD, R. Quality Assurance Schemes For Analytical Laboratories. Harmonized Guidelines For Single- Laboratory Validation of Methods of Analysis (IUPAC Technical Report) Harmonized guidelines for single-laboratory -laboratory (IUPAC Technical Report). **Pure and Applied Chemistry**, v. 74, n. 5, p. 835–855, 2002.

WANG, D. D. et al. Magnetic polydopamine modified with deep eutectic solvent for the magnetic solid-phase extraction of sulfonylurea herbicides in water samples. **Journal of Chromatography A**, v. 1601, p. 53–59, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2019.05.011>>.

WEI, S. et al. Fabrication of a polymeric composite incorporating metal-organic framework nanosheets for solid-phase microextraction of polycyclic aromatic hydrocarbons from water samples. **Analytica Chimica Acta**, v. 971, p. 48–54, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.aca.2017.04.005>>.

YAZDANPANA, M.; NOJAVAN, S. Micro-solid phase extraction of some polycyclic aromatic hydrocarbons from environmental water samples using magnetic-cyclodextrin-carbon nano-tube composite as a sorbent. **Journal of Chromatography A**, v. 1585, p. 34–45, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2018.11.066>>.

ZHANG, M. et al. Magnetic adsorbent based on mesoporous silica nanoparticles for magnetic solid phase extraction of pyrethroid pesticides in water samples. **Journal of Chromatography A**, v. 1598, p. 20–29, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2019.03.048>>.

ZHANG, N. et al. Moisture stable Ni-Zn MOF / g-C₃N₄ nanoflowers : A highly efficient adsorbent for solid-phase microextraction of PAHs. **Journal of Chromatography A**, v. 1556, p. 37–46, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2018.04.066>>.

ZHANG, Y. et al. Three-dimensional ionic liquid functionalized magnetic graphene oxide nanocomposite for the magnetic dispersive solid phase extraction of 16 polycyclic aromatic hydrocarbons in vegetable oils. **Journal of Chromatography A**, v. 1489, p. 29–38, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2017.02.010>>.

**CAPÍTULO III – DESENVOLVIMENTO DE UM PROCEDIMENTO DE EXTRAÇÃO
EM FASE MICRO-SÓLIDA DISPERSIVA COMBINADO COM UMA
ETAPA DE MICRO-DESSORÇÃO PARA A DETERMINAÇÃO
SIMULTÂNEA DE 39 RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS
MULTICLASSE EM AMOSTRAS DE ÁGUA**

3.1 INTRODUÇÃO

A aplicação de agrotóxicos em larga tem sido motivo de grande preocupação devido a eventos de contaminação de vários compartimentos ambientais, principalmente o ambiente aquático (MONTIEL-LEÓN *et al.*, 2019; NASCIMENTO; DA ROCHA; DE ANDRADE, 2018). Uma vez que os agrotóxicos alcançam os corpos d'água, sua concentração inicial é bastante reduzida por uma variedade de processos, como sorção no material particulado em suspensão ou sedimento e degradação química e/ou biológica (TOMAŠEVIĆ *et al.*, 2010). Desta forma, os resíduos de agrotóxicos encontrados em amostras de água doce ou água salgada estão presentes em níveis de concentração que raramente excedem a faixa de $\mu\text{g L}^{-1}$, exigindo procedimentos de extração/pré-concentração eficientes e que apresentem limites de detecção e quantificação adequados.

A extração em fase micro-sólida dispersiva (D- μ -SPE) tem se mostrado uma alternativa interessante para a extração de agrotóxicos em água (CHISVERT; CÁRDENAS; LUCENA, 2019; KHEZELI; DANESHFAR, 2017). Os procedimentos mais recentes envolvendo D- μ -SPE incluem o uso de novos sorventes seletivos, como sorventes magnéticos (CHAHKANDI; AMIRI; ARAMI, 2019; FARAJZADEH; YADEGHARI; KHOSH MARAM, 2018; SENOSY *et al.*, 2020; WANG *et al.*, 2019; ZHANG *et al.*, 2019), polímeros impressos molecularmente (ARIAS *et al.*, 2020) e estruturas metal-orgânicas (AMIRI *et al.*, 2019; HUANG; KEE, 2015; SENOSY *et al.*, 2020; SHAKOURIAN; YAMINI; SAFARI, 2020), com foco na extração de agrotóxicos do grupo químico dos organofosforados (AMIRI *et al.*, 2019; LIU *et al.*, 2020; RASHIDI NODEH *et al.*, 2017; TÜMAY ÖZER; OSMAN; PARLAK, 2020), triazinas (TURIEL; DÍAZ-ÁLVAREZ; MARTÍN-ESTEBAN, 2020), organoclorados (HUANG; KEE, 2015), triazóis (SENOSY *et al.*, 2020) e piretróides (ZHANG, MEIXING *et al.*, 2019) de amostras de água. Entretanto, sorventes utilizados na SPE clássica, como sílica quimicamente ligada, sorventes à base de sílica e óxidos inorgânicos ainda são amplamente utilizados para extração/pré-concentração ou *cleanup* de agrotóxicos de matrizes aquosas, devido à sua disponibilidade, simplicidade e custo relativamente baixo (GHORBANI *et al.*, 2020).

Embora exista uma ampla variedade de sorventes disponíveis, trabalhos reportando o desenvolvimento de novos dispositivos para D- μ -SPE que sejam

simples, eficientes, compatíveis com os princípios da química analítica verde (GAŁUSZKA; MIGASZEWSKI; NAMIEŚNIK, 2013), capazes de extrair várias amostras simultaneamente, e flexíveis o suficiente para permitir o uso de diferentes sorventes e volumes de amostra, ainda são muito escassos. Alguns estudos relatam o desenvolvimento de dispositivos simples e eficazes para a extração de poluentes orgânicos. García-Valverde et al. (2016) desenvolveram um procedimento D- μ -SPE baseado em dispositivos do tipo seringa para a extração de clorofenóis usando fibra de carbono como sorvente. Apesar de sua eficácia, esse procedimento apresenta limitações quanto à análise simultânea de um grande número de amostras (GARCÍA-VALVERDE *et al.*, 2016). Um dispositivo inovador de tubo de vidro de abertura estreita foi desenvolvido por Farajzadeh et al. (2017; 2018) para a extração de agrotóxicos multiclasse de vegetais e suco de frutas. Eles avaliaram diferentes sorventes, incluindo sorventes de sílica quimicamente ligados, como C₈, C₁₈, diol, CN e NH₂.

3.1.1 OBJETIVOS

3.1.1.1 Objetivo geral

O presente estudo teve como objetivo desenvolver um procedimento D- μ -SPE para a extração e pré-concentração de 39 agrotóxicos com diferentes grupos químicos em amostras de água.

3.1.1.1.1 Objetivos específicos

- ✓ Otimizar a separação dos agrotóxicos por GC-MS;
- ✓ Avaliar a eficiência de diferentes tipos de sorventes para extração dos agrotóxicos em água;
- ✓ Avaliar as melhores proporções de misturas de sorventes empregando planejamento de misturas;
- ✓ Otimizar as condições de extração dos agrotóxicos em água utilizando-se técnicas de planejamento de experimentos;
- ✓ Avaliar os níveis de agrotóxicos em amostras de água do mar e água doce empregando-se o procedimento desenvolvido;

3.2 MATERIAIS E MÉTODOS

3.2.1 Reagentes e soluções

Neste estudo, foi utilizada uma solução padrão mista certificada de agrotóxicos orgaoclorados (EPA Apêndice IX, 2000 µg mL⁻¹) preparada em tolueno:hexano 1:1 v/v e composta pelos seguintes compostos: alfa-HCH (99,9%), gama-HCH (99,7%), beta-HCH (99,4%), heptacloro (99,9%), delta-HCH (99,9 %), aldrin (99,5%), heptacloro-epóxido (99,9%), alfa-endosulfan (97,8%), 4,4'-DDE (98,5%), dieldrin (99,9%), endrin (99,9%), 4,4'-DDD (97,6%), beta-endosulfan (99,9%), 4,4'-DDT (98,2%), endrin aldeído (98,4%) e metoxicloro (99,9%). Essa solução padrão mista foi adquirida da Sigma-Aldrich (St. Louis, EUA). Os padrões analíticos de atrazina-d₅ (99,8%), fention-(S-metil-d₃) (98%), difenoconazol (99,7%), sulfotep (96,9%), etion (95%), metil paration (99,8%), clorpirifós (99,3%), imazalil (99,7%), tebuconazol (99,5%), dissulfoton (98,7%), fention (98,6%), malation (99,8%), molinato (98,2%) e piraclostrobina (99,9%) foram adquiridos da Sigma-Aldrich (St. Louis, Missouri, EUA). Azoxistrobina (99,5%), fenitrotion (98,5%), 2,2', 4,5', 6-pentaclorobifenil (PCB103, 100 µg mL⁻¹) e decaclorobifenil (1000 µg mL⁻¹) foram comprados da Chem Service (West Chester, Pensilvânia, EUA). Os padrões analíticos de permetrina (1000 µg mL⁻¹), bifentrina (1000 µg mL⁻¹) e tetraclorometaxileno (TCMX) (1000 µg mL⁻¹) foram comprados da Accustandard (New Haven, EUA).

Todos os solventes orgânicos utilizados neste trabalho foram de grau cromatográfico/espectroscópico. O metanol (MeOH, 99,9%) e a acetonitrila (ACN, 99,8%) foram adquiridos da Merck (Darmstadt, Alemanha), e o 2-propanol (99,7%) e o acetato de etila (AcEt) foram comprados da JT Baker (Center Valley, EUA). Reagentes como o hidróxido de sódio (98%) foi adquirido da Sigma Aldrich e ácido clorídrico (HCl, 37%) foi adquirido da Merck (Darmstadt, Alemanha). A água ultrapura foi obtida de um sistema MilliQ MilliPore Merck (Darmstadt, Alemanha) com resistividade de 18,2 MΩ cm (25°C) e teor de carbono orgânico < 3 ppb.

Em relação as sorventes utilizados neste trabalho, o octadecilsilano (C₁₈, tamanho de partícula de 50 µm, tamanho médio de poro de 65 Å, área superficial de 400 m² g⁻¹) foi comprado da Phenomenex (Torrance, Califórnia, EUA). Amberlite XAD-

4 (tamanho de partícula 250-841 μm , tamanho médio de poro 100 \AA , área superficial $750\text{ m}^2\text{ g}^{-1}$) e silicato de magnésio (Forisil, tamanho de partícula 149-250 μm , tamanho médio de poro 60 \AA , $289\text{ m}^2\text{ g}^{-1}$ de área superficial) foram comprados da Supelco (Bellefonte, Pensilvânia, EUA). O Chromosorb G/AW-DMCS (tamanho de partícula de 125-149 μm , $0,5\text{ m}^2\text{ g}^{-1}$) foi adquirido da Ohio Valley Speciality (Marietta, Ohio, EUA) e o Oasis HLB 6cc (tamanho de partícula de 60 μm , tamanho médio de poro de 80 \AA , $800\text{ m}^2\text{ g}^{-1}$) foi adquirido da Waters (Milford, Massachusetts, EUA).

Uma solução estoque dos agrotóxicos organoclorados foi preparada em *n*-hexano na concentração final de 100 mg L^{-1} . As soluções estoque de azoxistrobina (506 mg L^{-1}), bifentrina (618 mg L^{-1}), clorpirifos (1000 mg L^{-1}), dissulfoton (5336 mg L^{-1}), difenoconazol I e difenoconazol II (1104 mg L^{-1}), dimetoato (1000 mg L^{-1}), etião (5070 mg L^{-1}), fention (5254 mg L^{-1}), fenitrotion (1170 mg L^{-1}), imazalil (738 mg L^{-1}), lambda-cialotrina I e lambda-cialotrina II (220 mg L^{-1}), malation (4730 mg L^{-1}), molinato (5036 mg L^{-1}), metil paration (1858 mg L^{-1}), permetrina I e permetrina II (586 mg L^{-1}), atrazina- d_5 (1000 mg L^{-1}), fention-(S-metil- d_3) (400 mg L^{-1}) e piraclostrobina (1464 mg L^{-1}) foram preparados em metanol.

Uma solução de trabalho mista contendo todos os agrotóxicos foi preparada em uma mistura de acetonitrila/acetato de etila (1:1 v/v) na concentração final de $1,00\text{ }\mu\text{g L}^{-1}$. As curvas analíticas foram preparadas diluindo-se a solução de trabalho em 100 mL de água ultrapura e extraindo os compostos diluídos nesse volume de água usando o procedimento D- μSPE proposto. Para isso, foram analisados dois conjuntos de curvas analíticas com oito níveis de concentração cada. A primeira curva de calibração foi construída usando concentrações variando de $2,0\text{ ng L}^{-1}$ a 30 ng L^{-1} , que incluiu os compostos com elevada sensibilidade à fonte de íons GC-MS IE+ (4,4-DDD, 4,4-DDE, 4,4-DDT, aldrin, alfa-HCH, alfa-endosulfan, beta-HCH, bifentrin, clorpirifos, delta-HCH, dieldrin, disulfoton, endrin, ethion, fention, gamma-HCH, metoxicloro, molinato, paration, permethrin, sulfotep e tebuconazol), enquanto que a segunda foi construída no intervalo de concentração de 25 ng L^{-1} a 600 ng L^{-1} , que incluiu os agrotóxicos menos sensíveis (atrazina, atrazina- d_5 , azoxistrobina, beta-endosulfan, decaclorobifenil, difenoconazol, dimetoato, endrin aldeído, fenitrotion, fention-(S-metil- d_3), heptacloro, heptacloro-epóxido, imazalil, lambda-cialotrina, malation, metil paration, PCB103, piraclostrobina, TCMX). Todas as soluções aquosas dos padrões dos agrotóxicos usadas nos experimentos foram preparadas em pH 7,00, ajustando-

se o pH da solução com NaOH 0,1 mol L⁻¹ ou HCl 0,1 mol L⁻¹ (medidor de pH Methrom, Herisau, Suíça).

3.2.2 Instrumentação

A concentração dos agrotóxicos foi determinada utilizando-se um GC-MS QP2010-Ultra (Shimadzu, Kyoto, Japão) equipado com uma coluna capilar Restek Rtx-5MS apolar (30 m × 0,25 mm D.I. × 0,25 µm de espessura de filme). O método cromatográfico utilizado na separação dos analitos foi aquele reportado por Nascimento, Da Rocha e De Andrade (2018) com algumas modificações. Para melhorar a separação dos agrotóxicos, a temperatura do forno e a vazão de hélio da coluna capilar foram ajustadas. Para isso, utilizou-se uma mistura padrão dos agrotóxicos na concentração de 500 µg L⁻¹. As condições de separação após otimização foram as seguintes: temperatura inicial do forno a 60 °C por 1,00 min. Em seguida, a temperatura foi aumentada para 180 °C a 20 °C min⁻¹, mantida nessa temperatura por 2,00 min, seguida por um novo aumento para 250 °C a 5 °C min⁻¹. Finalmente, a temperatura foi aumentada para 300 °C a 5 °C min⁻¹. O tempo total de corrida cromatográfica foi de 33 min. A vazão de hélio na coluna capilar foi de 1,15 mL min⁻¹. O espectrômetro de massas foi operado no modo de impacto de elétrons (IE+) a 70 eV. As temperaturas da fonte de íons e da linha de transferência foram fixadas em 280 °C. A voltagem do detector foi mantida em 1,3 kV. Os parâmetros cromatográficos e do espectrômetro de massas são mostrados na Tabela 3.1.

Tabela 3.1 – Tempo de retenção e principais fragmentos de massa usados na aquisição de dados (SIM).

Agrotóxicos	TR	Ion# 1	Ion# 2	Ion# 3	Agrotóxicos	TR	Ion# 1	Ion# 2	Ion# 3
Molinato	8,80	126	55	187	Imazalil	18,16	173	215	175
TCMX	9,86	207	209	244	4,4'-DDE	18,40	246	210	318
Sulfotep	10,48	322	97	238	Dieldrin	18,49	263	277	235
Alfa - HCH	10,89	183	109	181	Endrin	19,25	263	265	380
Dimetoato	11,19	87	93	229	Beta-endosulfan	19,57	241	195	206
Atrazina-d ₅	11,34	205	225	173	4,4'-DDD	19,86	235	165	199
Atrazina	11,39	200	215	173	Etion	20,00	231	97	153
Beta-HCH	11,61	183	109	181	Endrin aldeído	20,23	243	281	345
Gama-HCH	11,80	181	111	183	4,4'-DDT	21,15	235	165	199
Disulfoton	12,32	88	60	274	Tebuconazol	21,59	250	126	125
Delta-HCH	12,47	181	111	183	Bifentrin	22,99	181	166	165
Metil paration	13,65	109	125	93	Metoxicloro	23,18	227	169	212
Heptacloro	13,93	237	272	100	Lambda-cialotrina I	24,55	181	197	208
Fenitroton	14,53	109	125	277	Lambda-cialotrina II	24,83	181	197	208
Malation	14,83	173	93	125	Piraclostrobina	26,00	132	281	164
Aldrin	15,05	66	91	263	Permetrina I	26,30	183	165	163
Fention-(S-metil-d ₃)	15,11	281	109	125	Permetrina II	26,55	183	165	163
Fention	15,15	278	169	109	Decaclorobifenil	29,05	498	500	346
Clorpirifós	15,21	97	197	199	Difenoconazol I	30,59	265	267	323
Paration	15,24	291	97	109	Difenoconazol II	30,71	265	267	323
PCB103	15,87	326	254	255	Azoxistrobina	31,76	344	388	372
Heptacloro-epóxido	16,37	237	282	318					
Alfa-endosulfan	17,60	241	170	339					

A identificação dos analitos e a otimização do tempo de retenção foram realizadas no modo Scan, na faixa de massas entre m/z 40 a 500 a.m.u., usando uma solução de trabalho de mista de 500 $\mu\text{g L}^{-1}$ (preparada em ACN/AcEt 1:1 v/v). A identidade do composto foi confirmada comparando o espectro do analito com aqueles registrados na Biblioteca NIST. Para fins de análise quantitativa, a aquisição de dados foi realizada em *Single Ion Monitoring* (SIM), onde três íons mais intensos foram monitorados: um íon de quantificação e dois íons auxiliares, usados para confirmação da identidade do agrotóxico. Para os agrotóxicos que apresentam estereoisomerismo, como permetrina, difenoconazol e lambda-cialotrina, foram detectados dois íons para cada composto.

3.2.3 Amostragem

Amostras de água doce foram coletadas em sítios localizados na zona rural da região metropolitana de Salvador, Estado da Bahia, Brasil. Esses locais foram caracterizados pela presença de lagos e rios próximos a pastos bovinos e plantações de citros, mandioca e eucalipto. Amostras de água do mar foram coletadas na praia da Ribeira, cidade de Salvador. As amostras foram coletadas em frascos de vidro âmbar de 1 L e imediatamente filtradas por um filtro de microfibras de quartzo Whatman (GE Healthcare Life Science, Reino Unido) acoplado a um sistema de filtração a vácuo. Após a filtração, as amostras de água (fração dissolvida) foram transferidas para frascos de vidro âmbar e armazenadas a 4–6 ° C antes da análise. Todas as amostras foram analisadas dentro do prazo de 14 dias.

3.2.4 Dispositivos D- μ -SPE e procedimento de extração

Um dispositivo de vidro de extração D- μ -SPE e um dispositivo de dessorção em microescala Whatman Mini-UniPrep G2 (Chicago, Illinois, EUA) foram utilizados para realizar a extração dos agrotóxicos em água. Esse dispositivo possui as mesmas dimensões relatadas e mecanismo de funcionamento reportados no Capítulo II para extração de CAPs em água. A grande vantagem de sistemas como esse é a possibilidade de se utilizar sorventes usados na SPE clássica, como C₁₈, Florisil, Oasis

HLB, XAD-4 e Chromosorb G/AW-DCMS. Além disso, há também a possibilidade de realizar a dessorção, filtração e injeção no mesmo dispositivo, reduzindo significativamente o número de etapas de preparo da amostra. Após a extração e posterior separação do sorvente por filtração, a abertura superior da ponta da micropipeta foi inserida na abertura superior da câmara de vidro do dispositivo de micro-dessorção (filtro sem seringa Whatman Mini-UniPrep G2, Chicago, Illinois, EUA). Um tubo capilar (7,5 mm x 1,2 mm I.D.) foi inserido na parte inferior da ponta da micropipeta para empurrar para baixo o sorvente compactado (que foi coletado junto com a lã de vidro) para a câmara de dessorção em microescala. Em seguida, a ponta da micropipeta foi rinsada com 500 µL do solvente de dessorção para garantir a transferência completa de pequenas quantidades do sorvente para a câmara de micro-dessorção. Após a etapa de dessorção, o extrato foi instantaneamente filtrado para o dispositivo de dessorção em microescala através de uma membrana de PTFE de 0,2 µm pressionando o êmbolo de polipropileno. O dispositivo dessorção em microescala foi então inserido em um amostrador automático para injeção imediata no GC-MS.

3.2.5 Otimização do procedimento D-µ-SPE

3.2.5.1 Otimização do tipo e da proporção do sorvente

Visando a extração de um grande número de agrotóxicos de diferentes grupos químicos (organoclorados, piretróides, organofosforados, estrobilurina, triazóis e triazinas), foi necessário avaliar cinco diferentes tipos de sorventes com uma ampla faixa de polaridade: C₁₈, Oasis HLB, Florisil, XAD-4 e Chromosorb G-AW-DMCS. Esses sorventes foram escolhidos devido ao seu baixo custo e fácil disponibilidade na maioria dos laboratórios. Cada sorvente foi testado individualmente por meio de extrações realizadas em duplicata (n=2), utilizando-se 100 mL de uma solução aquosa contendo todos os agrotóxicos na concentração de 1,0 µg L⁻¹ (pH 7,00). As condições iniciais da extração foram aquelas descritas no Capítulo II: 100 mg de sorvente, tempo de extração de 32 min (vortex, 1000 rpm) e tempo de dessorção de 20 min (por ultrassom) usando 500 µL de acetonitrila como solvente de dessorção. Após avaliação

do tipo de sorvente, empregamos um planejamento de misturas do tipo simplex-centróide com dez experimentos e quatro repetições no ponto central, totalizando quatorze experimentos. Os experimentos foram realizados em ordem aleatória, e as áreas dos picos foram usadas como as respostas experimentais. Devido ao elevado número de respostas individuais, utilizamos a estratégia da resposta múltipla (Eq. 3.1) (SANTOS *et al.*, 2009):

3.2.5.2 Otimização das condições de extração e dessorção

As condições de extração foram otimizadas por meio de técnicas de planejamento de experimentos. Inicialmente, um planejamento fatorial completo com dois níveis (2^3) foi empregado para a triagem dos fatores. Assim, o tempo de extração (de 10 a 30 min), o tempo de dessorção (de 10 a 20 min) e o efeito “salting out” (porcentagem de NaCl de 0% a 5%) foram estudados como fatores. Os parâmetros mais significativos foram avaliados posteriormente através da metodologia de superfície de resposta (MSR), onde a matriz de Doehlert foi selecionada em função da sua elevada eficiência (FERREIRA, S., 2004). Tanto no planejamento fatorial completo quanto na matriz de Doehlert, todos os experimentos foram realizados em ordem aleatória com triplicatas no ponto central. As áreas de pico foram usadas como resposta experimental. Todas as extrações foram realizadas com solução aquosa contendo todos os agrotóxicos (pH 7,00) na concentração de $1,0 \mu\text{g L}^{-1}$ em água ultrapura.

Após definir as condições de extração, foi avaliado o uso de ACN, AcEt e uma mistura binária dos dois (1:1 v/v) como solvente de dessorção. Esses solventes são amplamente empregados na extração de agrotóxicos de diferentes grupos químicos. Assim, um volume de 500 μL do solvente (ACN, AcEt ou uma mistura entre eles) foi utilizado para dessorver os agrotóxicos do sorvente após a extração de 100 mL de uma solução aquosa (pH 7,00) contendo todos os agrotóxicos estudados na concentração de $1,0 \mu\text{g L}^{-1}$. Os experimentos foram realizados em duplicata ($n = 2$).

3.2.5.3 Avaliação do volume da amostra

Após a definir o tipo de sorvente e as condições de extração, o volume da amostra foi otimizado. As extrações (em duplicata) foram realizadas avaliando-se volumes de 50, 100, 150 e 200 mL de uma solução aquosa (pH 7,00) contendo todos os agrotóxicos na concentração de $1,0 \mu\text{g L}^{-1}$.

3.2.6 Protocolos de garantia e controle de qualidade

Todos os materiais e vidrarias foram descontaminados de acordo com o método EPA 1699 para análise de agrotóxicos (EPA, 2007a), que envolve a limpeza com solução de Extran neutro 10 % (v/v) sob sonicação a 50 °C, seguida de enxague com água destilada e rinsagem com metanol. As vidrarias não volumétricas foram calcinadas em forno mufla a 400 °C por 4h. Os sorventes C₁₈, Forisil, Chromosorb, OASIS HLB e XAD-4 foram rigorosamente limpos com porções metanol e acetonitrila antes do uso.

Para verificar a ocorrência de picos interferentes eluindo no mesmo tempo de retenção dos analitos, foram avaliados diferentes tipos de brancos, como o branco do instrumento analítico, o branco do solvente/reagente e o branco do procedimento. O branco do instrumento foi avaliado por meio da análise do gás de arraste do GC-MS. O branco do solvente/reagente foi avaliado através de injeções individuais dos solventes de dessorção e do extrato dos sorventes utilizados neste estudo. A avaliação dos brancos do procedimento foi realizada aplicando-se o procedimento proposto na extração de uma amostra de água ultrapura. Nenhum pico interferente foi detectado eluindo no mesmo tempo de retenção dos analitos no branco do instrumento e nos brancos dos solventes/reagentes. Em relação ao branco do procedimento, foram detectados pequenos picos eluindo no mesmo tempo de retenção de dimetoato (<LD), metil paration (<LQ) e fenitrothion (<LQ). No entanto, os valores de área de pico desses compostos foram subtraídos das áreas de pico das amostras.

A eficiência de extração foi avaliada em cada batelada por meio da adição de padrões *surrogate* às amostras antes da extração. Os padrões de TCMX, PCB103 e DCB foram usados como padrões *surrogates* para análise dos agrotóxicos

organoclorados, enquanto os padrões deuterados atrazina-d₅ e fention-(S-metil-d₃) foram utilizados para avaliar a eficiência da extração em relação aos demais agrotóxicos. No entanto, não foram realizadas correções de sinal do analito pelos padrões *surrogates*. As recuperações dos padrões *surrogate* foram calculadas em cada uma das amostras. Se fossem obtidos valores de recuperações muito baixos ou muito elevados, a análise da amostra era repetida. As recuperações relativas para TCMX, atrazina-d₅, fention-(S-metil-d₃), PCB103 e DCB nas amostras variaram de 83,1 ± 2,0 % a 107 ± 2 %, 59,0 ± 4,2 % a 98,2 ± 10,5 %, 58,9 ± 10,1 % a 92,2 ± 4,7 %, 72,1 ± 12,3 % a 115 ± 3 %, 74,5 ± 2,7 % a 112 ± 1 %, respectivamente.

A identificação dos agrotóxicos no modo SIM por GC-MS foi realizada de acordo com os critérios estabelecidos pela SAMCO (SAMCO, 2014). Pelo menos três íons para cada composto; o tempo de retenção dos agrotóxicos encontrados na amostra semelhante ao padrão em ± 0,20 min; relação sinal-ruído do íon menos intenso maior que 3:1. Todos os agrotóxicos avaliados na etapa de otimização e análise de amostra atenderam a esses critérios.

3.2.7 Validação do procedimento analítico

O procedimento analítico foi validado de acordo com as figuras de mérito envolvendo o modo de validação “no laboratório” IUPAC (THOMPSON; ELLISON; WOOD, 2002), as quais foram: faixa linear, linearidade, limite de detecção (LD), limite de quantificação (LQ), precisão instrumental (precisão intradia e inter-dia) e exatidão (recuperações relativas). A linearidade foi avaliada calculando-se o coeficiente de determinação (R^2) das curvas analíticas construídas em oito níveis de concentração e duas faixas de concentração (2,0 - 30 ng L⁻¹ e 25 - 600 ng L⁻¹). Todos os pontos da curva de calibração foram injetados em triplicata (n = 3) utilizando o procedimento proposto. A análise de variância (ANOVA, p <0,05) foi aplicada a cada curva de calibração para avaliar a significância da falta de ajuste.

O LD e LQ foram obtidos a partir dos parâmetros da curva de calibração (RIBANI; COLLINS; BOTTOLI, 2007). O LD foi calculado como $(3 \times S_b)/a$, e o LQ foi calculado como $(10 \times S_b)/a$, onde “S_b” é o desvio padrão do coeficiente linear e “a” é o coeficiente angular da curva analítica. A precisão intradia foi avaliada através do

desvio padrão relativo (RSD) de sete injeções (n=7) no mesmo dia, e a precisão interdia foi avaliada considerando o RSD obtido de sete injeções em três dias diferentes (n=21).

A exatidão do procedimento proposto foi investigada por meio das recuperações relativas (n=3) obtidas em quatro níveis de concentração. Para isso, amostras de água doce e água do mar foram contaminadas com alíquotas da solução de trabalho mista contendo todos os agrotóxicos, para obter as concentrações finais de 6, 18, 50 e 300 ng L⁻¹. A eficiência do procedimento proposto foi avaliada pelo cálculo das recuperações da extração (RE) e fatores de concentração (FC) usando a Eq. 3.1 e 3.2, respectivamente (NOJAVAN; YAZDANPANAHA, 2017):

$$RE (\%) = \left(\frac{n_{org}}{n_{aq}} \right) \times 100 \% = \left(\frac{v_{org}}{v_{aq}} \right) \times \left(\frac{[CAgro]_{org}}{[CAgro]_{n_{aq}}} \right) \times 100 \quad (3.1)$$

$$FC = \frac{[CAgro]_{org}}{[CAgro]_{aq}} \quad (2.2)$$

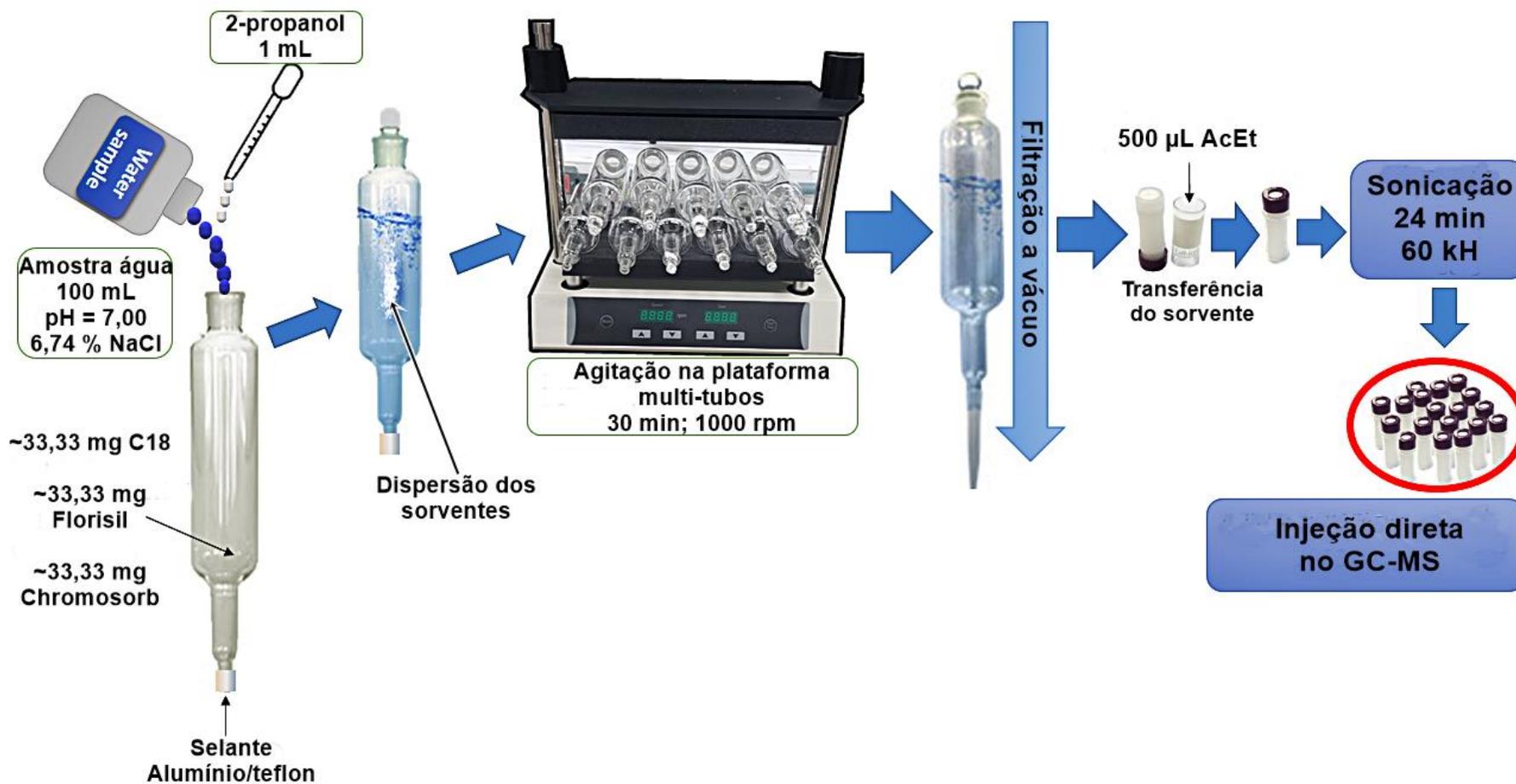
Onde n_{org} é a quantidade do agrotóxico concentrado no solvente de dessorção e n_{aq} é a quantidade total do agrotóxico inicialmente presente na solução da amostra. v_{org} e v_{aq} é o volume do solvente de dessorção e da solução de amostra, respectivamente. O $[CAgro]_{org}$ é a concentração final dos agrotóxicos no solvente de dessorção e o $[CAgro]_{aq}$ é a concentração inicial do agrotóxico na solução da amostra (NOJAVAN; YAZDANPANAHA, 2017).

3.2.8 Aplicação do procedimento em amostras reais

O procedimento proposto foi aplicado na determinação de resíduos de agrotóxicos em sete amostras de água, que incluíram água doce e água do mar. Para isso, uma alíquota da amostra de água foi transferida para um balão volumétrico de 100 mL contendo 6,74 g de NaCl. Para amostras de água do mar, que naturalmente apresentam alta salinidade, não foi realizada a adição de sal. Em seguida, o pH da

amostra foi ajustado para 7,00 pela adição de NaOH 0,1 M ou HCl 0,1 M. A amostra foi contaminada com uma solução mista dos padrões *surrogates* (PCB103, decaclorobifenil, atrazina-d₅ e fention-(S-metil-d₃) na concentração final de 70 ng L⁻¹. Em seguida, o volume da amostra foi completado para 100 mL. A amostra de água foi transferida para o dispositivo de extração contendo 100 mg de uma mistura sorvente composta por C₁₈, Forisil e Chromosorb G/AW-DCMS (33,33 mg cada) e 1 mL de 2-propanol como solvente de dispersão. Todo o sistema foi agitado a 1000 rpm por 30 min usando uma plataforma de agitação multi-tubos. Após agitação, a amostra foi filtrada a vácuo e o sorvente foi retido em uma ponteira de micropipeta contendo aproximadamente 22 mg de lã de vidro compactada. O sorvente foi transferido para o dispositivo de micro-dessorção, o qual foi mantido em um dessecador por cerca de 60-120 min (protegido da luz) para redução da umidade. Em seguida, 500 µL de EtAc foram adicionados como solvente de dessorção. O dispositivo foi parcialmente fechado com êmbolo de propileno e o sistema foi sonicado por 24 min a 60 kHz usando um banho ultrassônico. Após a dessorção, a solução resultante foi instantaneamente filtrada no dispositivo de micro-dessorção através de uma membrana de PTFE de 0,2 µm e, em seguida, o dispositivo de micro-dessorção foi colocado no amostrador automático para injeção imediata no GC-MS. O esquema geral que representa o procedimento de extração proposto é mostrado na Tabela 3.1.

Figura 3.1 – Esquema geral do procedimento de extração desenvolvido. O dispositivo de extração possui as seguintes dimensões: um comprimento total de 150 mm, uma abertura superior de 20 mm e um tubo conectado de 4,5 mm com uma abertura inferior de 9,0 mm.

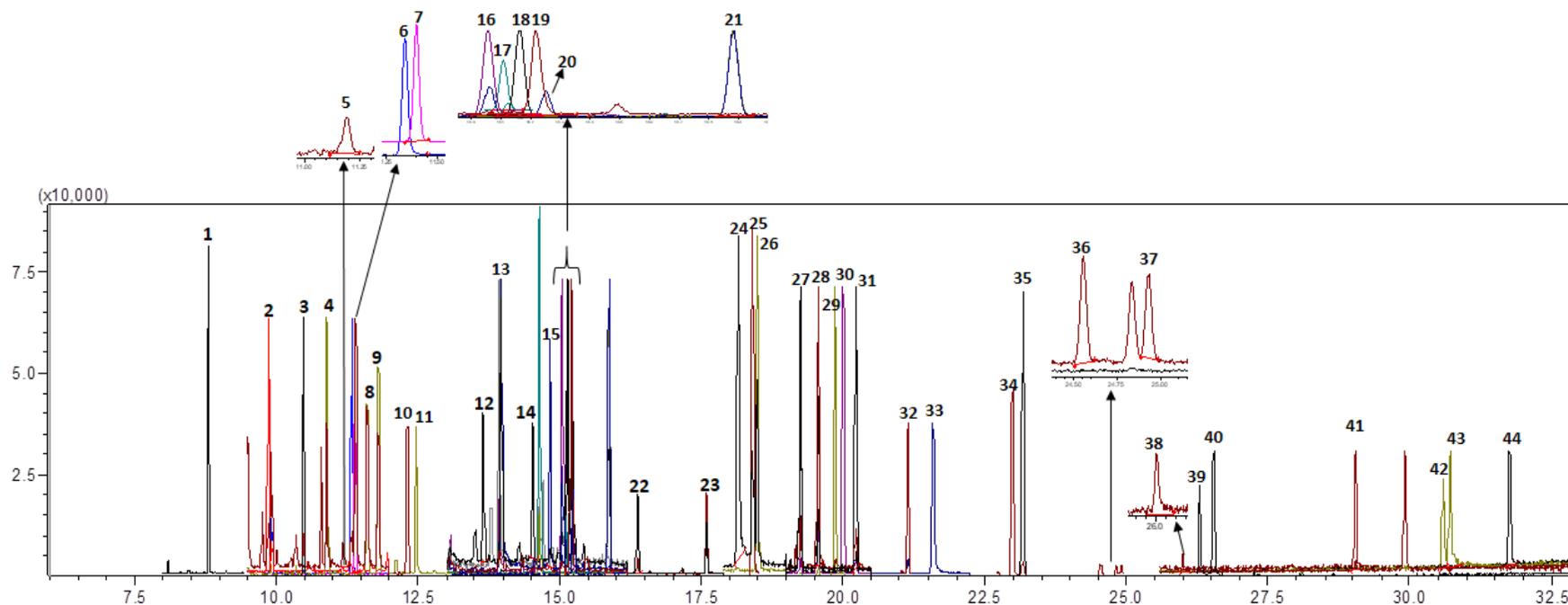


3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.3.1 Separação cromatográfica

Neste estudo, expandimos o número de agrotóxicos investigados por Nascimento, Da Rocha e De Andrade (2018) através da adição de seis novos agrotóxicos (metil-paration, fenitrothion, imazalil, piraclostrobina, dimetoato e atrazina) e três novos padrões *surrogate* (DCB, fention-(S-metil-d₃) e atrazina-d₅), totalizando nove compostos. Com exceção do metil-paration (proibido no Brasil), a detecção desses agrotóxicos é de grande importância, pois eles são amplamente aplicados em muitas culturas agrícolas, como milho, algodão, café e trigo (ANVISA, 2020; DELLA-FLORE *et al.*, 2019). Nos testes preliminares de separação, as condições cromatográficas reportadas por Nascimento, Da Rocha e De Andrade (2018) foram empregadas. Embora a maioria dos agrotóxicos estivessem bem separados, alguns eventos de coeluição foram observados em relação aos picos do clorpirifós, paration, fention e fenitrothion, os quais apresentam pelo menos um fragmento *m/z* idêntico. Assim, para melhorar a separação desses compostos, a rampa de temperatura do forno do GC e a vazão da coluna capilar tiveram que ser ajustadas. Para isso, a temperatura inicial foi mantida a 60 °C durante 1 min. A primeira faixa de temperatura do forno variou de 175 °C a 200 °C com uma taxa de incremento de temperatura entre 10 e 25 °C min⁻¹ e um tempo de espera variando de 1 a 2 min. Finalmente, a segunda faixa de temperatura variou de 250 °C a 280 °C com uma taxa de incremento de temperatura entre 5 e 10 °C min⁻¹. A vazão da coluna capilar foi variada entre 1,00 mL min⁻¹ e 1,15 mL min⁻¹. A melhor separação foi obtida utilizando-se uma rampa de temperatura começando em 60 °C, mantendo por 1 min, aumentando-se a temperatura para 180 °C a 20 °C min⁻¹, mantendo-se por 2 min nesta temperatura, então aumentando-se para 250 °C a 5 °C min⁻¹ e, finalmente, aumentando-se para 300 °C a 5 °C min⁻¹. Um cromatograma ilustrando a separação de agrotóxicos após a otimização é mostrado na Figura 3.2.

Figura 3.2. – Cromatograma de uma solução padrão de 600 ng L⁻¹ contendo todos os agrotóxicos extraídos de água ultrapura. A análise foi realizada por GC-MS em modo SIM.



[1] molinato (8,80 min), [2] TCMX (9,86), [3] sulfotep (10,48 min), [4] alfa-HCH (10,89 min), [5] dimetoato (11,19 min), [6] atrazina-d5 (11,34 min), [7] atrazina (11,39 min), [8] beta-HCH (11,61 min), [9] gama-HCH (11,80 min), [10] dissulfoton (12,32 min), [11] delta-HCH (12,47 min), [12] metil-paration (13,65 min), [13] heptacloro (13,93 min), [14] fenitroton (14,53 min), [15] malatião (14,83 min), [16] aldrina (15,05 min), [17] fention- (S-metil-d3) (15,11 min), [18] fention (15,15 min), [19] clorpirifos (15,21 min), [20] paration (15,24 min), [21] PCB103 (15,87 min), [22] heptacloro-epóxido (16,37 min), [23] alfa-endossulfano (17,60 min), [24] imazalil (18,16 min), [25] 4,4-DDE (18,40 min), [26] dieldrin (18,49 min), [27] endrina (19,25 min), [28] beta-endosulfan (19,57 min), [29] 4,4-DDD (19,86 min), [30] etião (20,00 min), [31] endrin-aldeído (20,23 min), [32] 4,4-DDT (21,15 min), [33] tebuconazol (21,59 min), [34] bifenthr em (22,99 min), [35] metoxicloro (23,18 min), [36] lambda-cialotrina I (24,55 min), [37] lambda-cialotrina II (24,83 min), [38] piraclostrobina (26,00 min), [39]] permetrina I (26,30 min), [40] permetrina II (26,55 min), [41] decaclorobifenil (29,05 min), [42] difenoconazol I (30,59 min) [43], difenoconazol II (30,71 min), [44] azoxistrobina (31,76 min).

3.3.2 Otimização das condições de extração

Os parâmetros de extração, tais como: o tempo de extração e dessorção, taxa de agitação, efeito “*salting out*”, pH, volume da amostra, tipo e quantidade de sorvente, volume e polaridade do solvente de dessorção e do solvente dispersor podem afetar a eficiência da D- μ -SPE. No presente estudo, alguns desses parâmetros (pH, volume do solvente de dessorção, solvente de dispersão e seu volume, e a massa do sorvente) já foram definidos com base em (i) trabalhos prévios utilizando um procedimento D- μ -SPE (NASCIMENTO; DA ROCHA; DE ANDRADE, 2019) e (ii) informações em artigos publicados recentemente, nos quais agrotóxicos contendo grupos químicos semelhantes foram investigados. Por exemplo, em nosso trabalho anterior (Capítulo II), foi demonstrado que a taxa de agitação não afeta a resposta quando se emprega D- μ -SPE. Além disso, o dispositivo de micro-dessorção não comporta mais do que 500 μ L de solvente, e o uso de uma massa sorvente acima de 100 mg no dispositivo de micro-dessorção leva a perda de eficiência na etapa (NASCIMENTO; DA ROCHA; DE ANDRADE, 2019). Em relação ao pH, alguns artigos recentes que investigaram os mesmos grupos químicos dos agrotóxicos avaliados neste trabalho mostraram que um pH próximo ao neutro tem uma influência pouco significativa na resposta (HUANG; KEE, 2015; MENEZES *et al.*, 2010). No entanto, os agrotóxicos organofosforados e piretróides são propensos à hidrólise em meio fortemente ácido ou alcalino, enquanto a maioria dos agrotóxicos organoclorados são moléculas não ionizáveis e não sofrem influência direta desse fator (HUANG; KEE, 2015). Em contrapartida, alguns estudos nos quais diferentes piretróides foram investigados relatam respostas ótimas em pH 7,00 (ZHANG, MEIXING *et al.*, 2019). Portanto, considerando os resultados reportados nestes trabalhos, algumas condições experimentais foram definidas da seguinte forma: pH = 7,00, 1 mL de 2-propanol como solvente dispersor, velocidade de agitação de 1000 rpm e 100 mg de sorvente. Esses valores foram fixados durante a etapa de otimização.

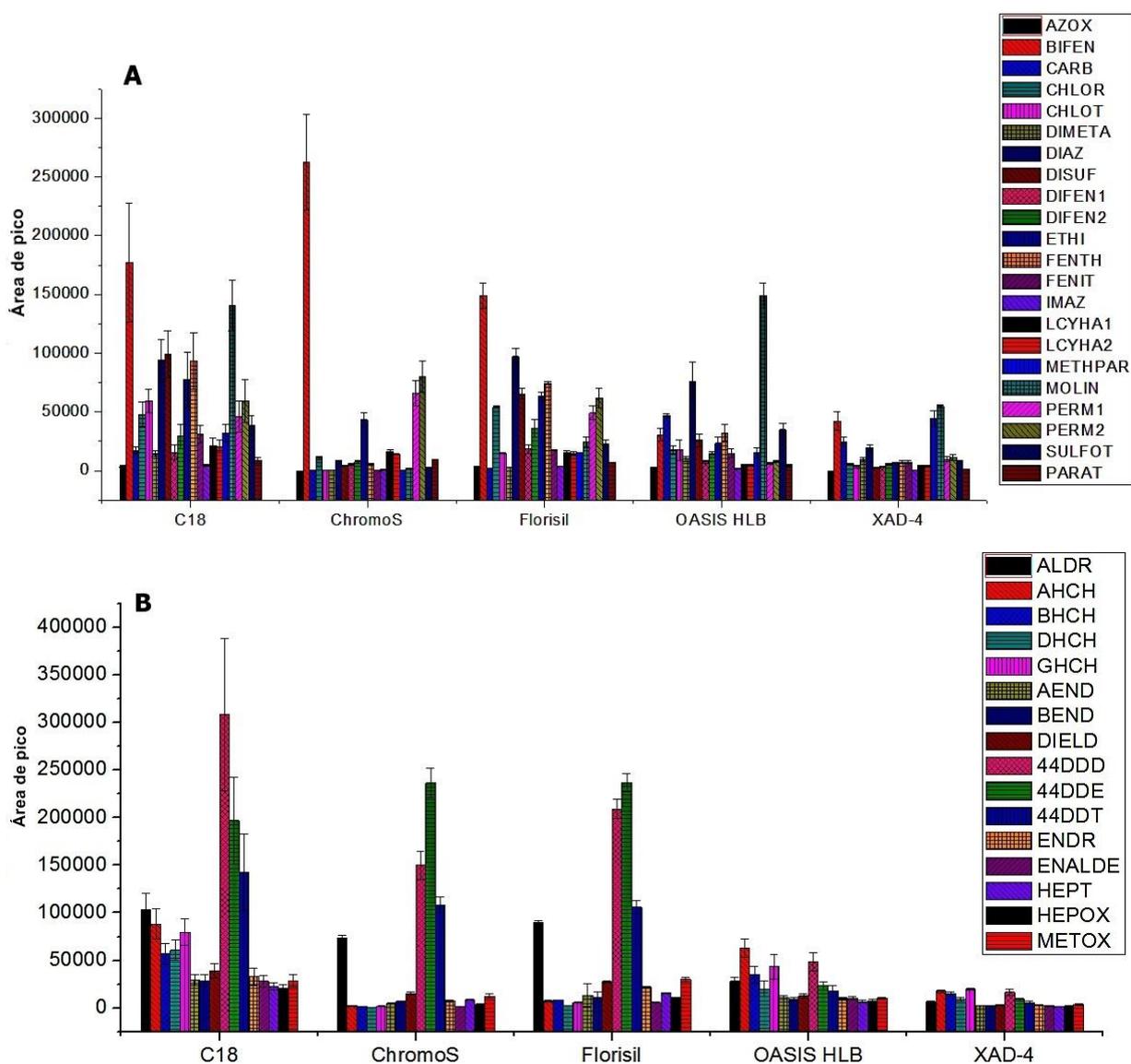
3.3.3 Avaliação do tipo de sorvente e otimização de sua proporção

A escolha do sorvente adequado é crítica para obter recuperações apropriadas na D- μ SPE. Os agrotóxicos investigados neste estudo têm uma ampla faixa de log K_{ow} , as quais variaram de 0,16 (disulfoton) a 6,91 (4,4-DDT) (Tabela 1.2, Tabela 1.3 e Tabela 1.4). Assim, cinco diferentes sorventes (C_{18} , Florisil, Chromosorb G-AW-DCMS, Oasis HLB e XAD-4) com foram testados para avaliar as suas respectivas eficiências na extração de agrotóxicos em água.

De acordo com os resultados, mostrados na Figura 3.3 o C_{18} mostrou-se muito eficaz na sorção de todos os agrotóxicos (organofosforados, organoclorados, piretróides, imidazol, triazina, estrobilurina e triazol) investigados. Sua eficiência pode ser explicada considerando-se sua longa cadeia alquila ligada covalentemente ao suporte sólido de sílica, permitindo interações hidrofóbicas via forças de van der Waals com os substituintes alquila e anéis aromáticos presentes na maioria das moléculas dos agrotóxicos avaliados (POOLE, 2003). Assim, os agrotóxicos com grande caráter hidrofóbico (com elevados valores de log K_{ow} , ver Tabela 1.2, Tabela 1.3 e Tabela 1.4), tais como 4,4-DDT (6,91), bifentrina (6,6), aldrina (6,5), permetrina (6,5), lambda-cialotrina (5,55), heptacloro (5,44) e etion (5,07), foram fortemente sorvidos em C_{18} . Os agrotóxicos caráter hidrofóbico menos acentuado (log K_{ow} 2,5 a 3,5) também foram eficientemente sorvidos em C_{18} . No entanto, já foi reportado que o C_{18} é menos eficaz na retenção de agrotóxicos mais hidrofílicos, com log K_{ow} <2 (PICHON, 2000). Assim, o uso de um sorvente mais polar, como o Florisil, contribuiu para um aumento da sorção dos agrotóxicos que contêm grupos funcionais polares em sua estrutura química, como organofosforados contendo grupos tiofosforil (P=S), além daqueles contendo grupos químicos estrobirulina, imidazol, piretróide e azoxistrobina. Além disso, a maioria dos agrotóxicos organoclorados também foram sorvidos em Florisil. Esses agrotóxicos foram caracterizados principalmente pela presença de grupos funcionais éter e cetona (endosulfan, endrin, dieldrin, metoxicloro e heptacloro-epóxido). Embora o Florisil tenha uma área superficial baixa (289 m² g⁻¹), ele pode interagir com grupos funcionais cetona, éster e nitro (presentes na maioria das estruturas químicas dos agróticos) por meio de interações do tipo dipolo-dipolo (MITRA, 2003; POOLE, 2003). Além disso, o Florisil contém um cátion de magnésio na superfície da sílica que pode atuar como um ácido de Lewis e, assim, interagir com

os grupos funcionais dos agrotóxicos contendo oxigênio, enxofre e nitrogênio por meio de interações ácido-base de Lewis.

Figura 3.3 –Avaliação de diferentes sorventes para extração de agrotóxicos. A) Extração de agrotóxicos organofosforados, piretróides, estrobirulinas, triazóis, carbamatos e tiocarbamatos. B) Extração de agrotóxicos organoclorados.



AZOX= azoxistrobina, BIFEN= bifentrina, CHLOR= clorpirifós, DIMETA= dimetoato, DISUF= disulfoton, DIFEN1=difenoconazol I, DIFEN2= difenoconazol II, ETHI = etion, FENTH= fention, FENIT= fenitrotion, IMAZ= imazalil, LCYHA1= lambda-cialotrina I, LCYHA2= lambda-cialotrina II, METHPAR= metil paration, MOLIN= molinato, PERM1= permetrina I, PERM2= permetrina II, SULFOT= sulfotep, PARAT= paration, ALDR= aldrin. AHCH= alfa-HCH, BHCH= beta-HCH, DHCH= delta-HCH, GHCH= gama-HCH, AEDN= alpha-endosulfan, BEND= beta-endosulfan, DIELD= dieldrin, 44DDD= 4,4-DDD, 44DDE= 4,4-DDE, 44DDT= 4,4-DDT, ENDR= endrin, ENALDE= endrin aldeído, HEPT= heptacloro, HEPOX= heptacloro-epoxido, METOX= metoxicloro.

O sorvente polimérico Oasis HLB teve um desempenho semelhante ao Florisil na sorção de agrotóxicos com caráter mais hidrofílico, incluindo agrotóxicos tiofosfato, como dissulfoton (log Kow 0,16), dimetoato (log Kow 0,75), molinato (log Kow 2,86), e estrobilurina, como azoxistrobina (log Kow 2,50). Isso pode ser explicado considerando que Oasis HLB é um sorvente que apresenta uma boa dispersão em água, além de um equilíbrio hidrofílico-lipofílico e uma grande área superficial ($\sim 750 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$). O grupo hidrofílico N-vinilpirrolidona presente na estrutura química do Oasis HLB aumenta a dispersão deste sorvente em água e melhora a sorção dos agrotóxicos mais hidrofílicos por meio de interações do tipo dipolo-dipolo e ligações de hidrogênio (principalmente com dimetoato) (BUSZEWSKI; SZULTKA, 2012). Em contrapartida, o grupo divinilbenzeno lipofílico permite interações hidrofóbicas e do tipo π - π com os anéis aromáticos presentes na estrutura dos organofosforados (fention, metil paration e fenitrothion), triazol (difenoconazol) e estrobilurina (azoxistrobina), melhorando a sorção desses agrotóxicos. No entanto, com exceção dos isômeros do hexaclorociclohexano (alfa-, beta-, gama- e delta-HCH), o sorvente Oasis HLB não foi eficaz na extração de agrotóxicos com caráter hidrofóbico muito acentuado, tais como: aldrina, dieldrin, endrin, endrin-aldeído, heptacloro, heptacloro-epóxido, 4,4-DDT, 4,4-DDD, 4,4-DDE, metoxicloro, etion, bifentrina, lambda-cialotrina e permetrina. De acordo com Chau et al. (2017), que investigou a eficiência do Oasis HLB e de outros sorventes utilizados na SPE para a extração de 311 compostos orgânicos, o Oasis HLB mostrou eficácia na extração de agrotóxicos com valores de log Kow variando de 0 a 4, entretanto, em $\log \text{Kow} > 4$, sua eficiência foi drasticamente reduzida. Isso pode explicar a baixa eficiência de extração dos compostos citados, pois a maioria deles possui valores de log Kow que variam entre 5,07 (etion) e 6,91 (4,4-DDT) (ver Tabela 1.2, Tabela 1.3 e Tabela 1.4) (CHAU *et al.*, 2017).

A retenção da maioria dos agrotóxicos organoclorados citados no parágrafo anterior foi melhorada com a adição de Chromosorb G-AW-DCMS. Este sorvente possui baixa área superficial ($0,5 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$), mas é revestido por uma fase apolar (dimetildiclorosilano), que pode interagir com esses agrotóxicos por meio de forças de van der Waals (MITRA, 2003). Além disso, a fração de sílica melhora a retenção de agrotóxicos piretróides, como bifentrina, lambda-cialotrina e permetrina, que têm cadeias longas com substituintes polares (éster, éter e ciano) permitindo interações dipolo-dipolo. O sorvente polimérico XAD-4 apresentou baixa eficiência de retenção

para a maioria dos agrotóxicos. Apesar deste sorvente possuir uma grande área superficial ($\sim 800 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$) e uma estrutura macrorreticular contendo anéis aromáticos (permitindo interações π - π e interações hidrofóbicas) (LÓPEZ; COSCOLLÀ; YUSÀ, 2018), ele tende a formar uma massa compacta na parte inferior da ponta da micropipeta, o que torna a filtragem difícil. Isso pode ter afetado negativamente os resultados.

Considerando a extração simultânea de todos os agrotóxicos, selecionamos uma combinação de C₁₈, Florisil e Chromosorb G-AW-DCMS. Como selecionamos três sorventes com características diferentes, foi necessário avaliar o uso de mistura entre eles e determinar a melhor proporção por meio de um planejamento estatístico de mistura (Tabela 3.2A). O planejamento de misturas é uma técnica de planejamento de experimentos que permite o estudo simultâneo da influência de diferentes componentes em uma mistura. A variação em um determinado componente dentro de uma mistura resultará em uma variação proporcional na resposta analítica (CALADO; MONTGOMERY, 2003; CANDIOTI *et al.*, 2014).

Uma análise detalhada dos resultados na Tabela 3.2A mostra que os maiores valores de resposta múltipla foram obtidos ao se utilizar uma mistura entre os três sorventes com predominância do C₁₈ (experimento 7) e uma mistura de proporções iguais dos três sorventes (experimentos 10, 11, 12, 13 e 14). Em relação ao uso dos componentes puros, apenas o C₁₈ produziu bons rendimentos na extração simultânea de agrotóxicos, apresentando quase o dobro da eficiência do Florisil. No entanto, há um efeito sinérgico na resposta quando uma mistura dos três sorventes é empregada. Isso pode ser verificado pelo fato de que a mistura dos três componentes proporcionou uma resposta (RM) superior à média dos componentes puros.

Para determinar a proporção quantitativa de cada sorvente na mistura, além de construir e validar os modelos matemáticos, os dados da Tabela 3.2A foram submetidos à ANOVA ($p < 0,05$). Os dados foram testados sequencialmente ajustando-se a eles um modelo linear, quadrático ou cúbico especial. Os modelos linear e quadrático não foram significativos e apresentaram evidência de significância de falta de ajuste. Quando o modelo foi ajustado para um modelo cúbico especial mais complexo, a MQ aumentou de 229 (quadrático) para 271 (cúbico especial), indicando que a maior parte da variância foi explicada por este modelo (Tabela 3.2B).

Tabela 3.2 A) Matriz de dados obtida do planejamento de mistura simplex-centróide.
B) Análise de Variância (ANOVA, <0,05).

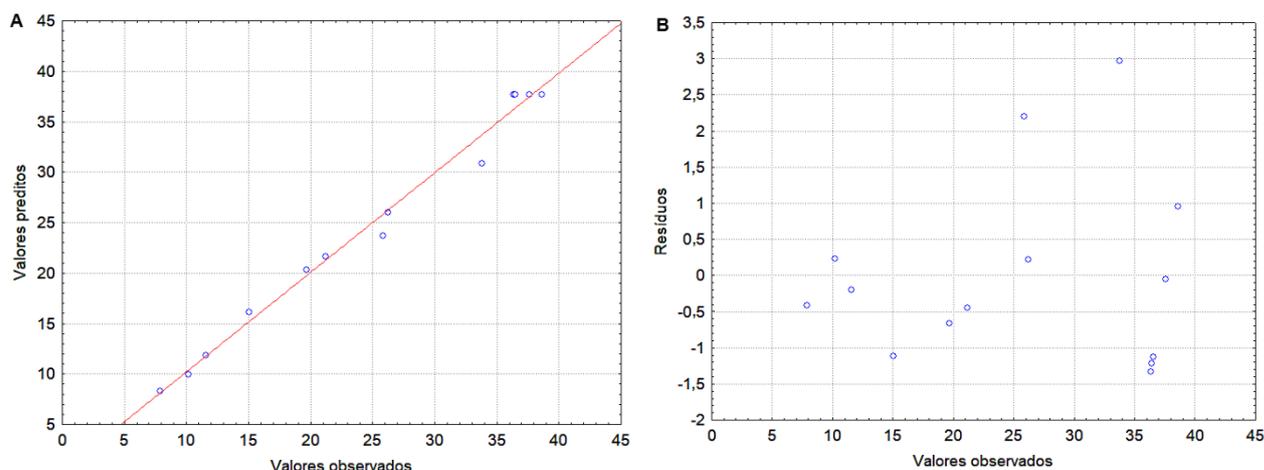
A)		Sorventes					
Experimento		C ₁₈	Florisil	Chromosorb			(RM)
1		1	0	0			19,6791
2		0	1	0			10,1992
3		0	0	1			7,8781
4		0	0,5	0,5			11,6100
5		0,5	0	0,5			15,0455
6		0,5	0,5	0			21,2014
7		0,66	0,17	0,17			33,7984
8		0,17	0,66	0,17			26,2416
9		0,17	0,17	0,66			25,8519
10		0,3333	0,3333	0,3333			36,4423
11		0,3333	0,3333	0,3333			37,6120
12		0,3333	0,3333	0,3333			36,3330
13		0,3333	0,3333	0,3333			36,4611
14		0,3333	0,3333	0,3333			36,5331

B)							
Modelo	Fonte de variação	MQ	gl	MQ	F (calculado)	F (crítico)	p<0,05
Linear	Modelo	151	2	75,3	0,554	3,98	0,590045
	Erro total	1496	11	136			
	Falta de ajuste	1492	7	213	218	6,09	0,000053
	Erro puro	3,91	4	0,977			
Quadrático	Modelo	1147	5	229	3,67	3,69	0,050455
	Erro total	499	8	62,4			
	Falta de ajuste	495	4	124	127	6,39	0,000183
	Erro puro	3,91	4	0,978			
Cúbico especial	Modelo	1625	6	271	89,1	3,87	0,000003
	Erro total	21,3	7	3,04			
	Falta de ajuste	17,4	3	5,79	5,93	6,59	0,059126
	Erro puro	3,91	4	0,977			

SQ = soma quadrática, df = grau de liberdade, MQ = média quadrática, F (crítico) valor da distribuição F com 5 % de significância.

A significância do modelo matemático em relação aos resíduos foi calculada pela razão MQR/MQ_r (F calculado). Se $MQR/MQ_r > F$ crítico, a maior parte da variância é explicada pelo modelo matemático e não pelos resíduos. Da mesma forma, a significância da falta de ajuste é determinada por MQ_{Faj}/MQ_{ep} . O modelo matemático apresentará uma falta de ajuste significativa se $MQ_{Faj}/MQ_{ep} > F$ (crítico), não sendo capaz de fornecer previsões confiáveis de ponto ótimo. Assim, o modelo matemático cúbico especial apresentou MQR/MQ_r igual a $89,1 > F$ crítico (3,87), sem evidência de significância de falta de ajuste. Os resíduos deixados pelo modelo foram baixos e apresentaram comportamento aleatório (Figura 3.3A e Figura 3.3B). Devido a sua boa capacidade de previsão, o modelo cúbico especial foi selecionado para previsão do ponto ótimo.

Figura 3.4 – Gráficos de valores preditos vs observados (A) e valores observados vs resíduos para o modelo cúbico especial do planejamento de misturas

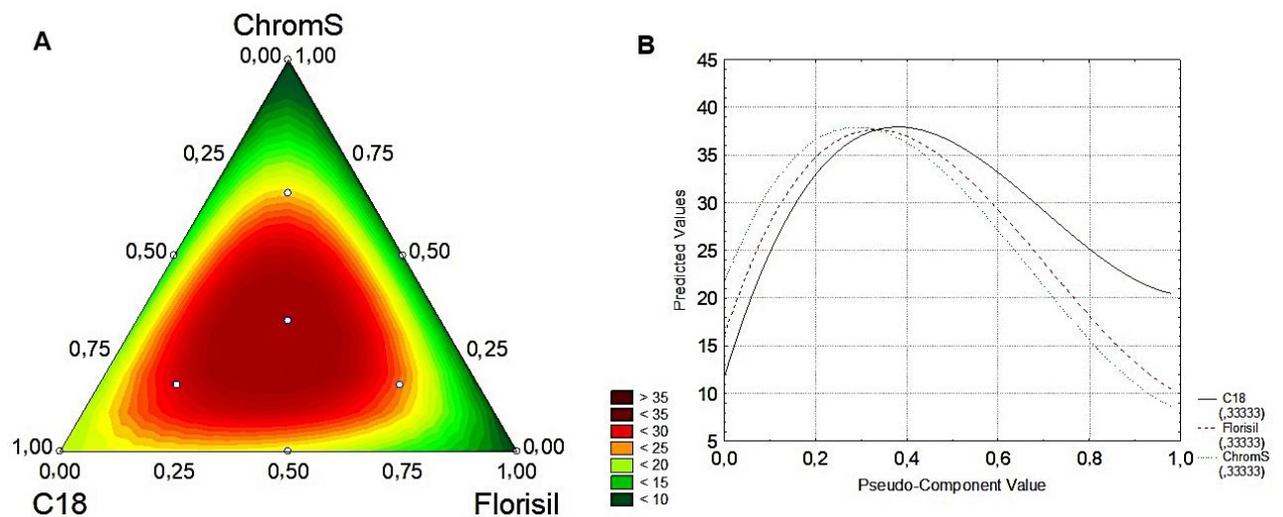


A expressão matemática (coeficiente \pm erro padrão) para o modelo cúbico especial ajustado é representada pela Eq. 3.3 (apenas os termos significativos são mostrados):

$$\begin{aligned}
 RM = & 20,3(\pm 1.69)C_{18} + 9,97(\pm 1.69)Florasil + 8,29(\pm 1.69)Chromosorb \\
 & + 26,0(\pm 8.48)C_{18} \times Florasil + 537 (\pm 43)C_{18} \times Florasil \times Chromosorb
 \end{aligned}
 \tag{3.3}$$

O elevado valor positivo do termo de interação do componente (537 ± 43) da mistura (C₁₈, Florisil e Chromosorb G/AW-DCMS) indica um forte efeito sinérgico quando os três sorventes são combinados. Isso também é ilustrado pelas linhas de contorno e traços dos gráficos mostrados na Figura 3.5. Uma região de resposta máxima é observada quando proporções iguais de C₁₈, Florisil e Chromosorb G/AW-DCMS são usadas (Figura 3.5A) (33,33% de cada). O valor máximo previsto pelo modelo é de 37,66 (Figura 3.5B) quando se utiliza uma mistura contendo 1/3 de cada sorvente. Duas extrações foram realizadas usando essas proporções de sorventes, resultando em uma resposta média de $38,38 \pm 2,9$. Um teste t para médias iguais foi aplicado para comparar os valores experimentais com aqueles previstos pelo modelo. O valor de t calculado foi de 3,10, que é inferior ao t crítico (12,7). Assim, a boa capacidade preditiva do foi comprovada e uma mistura de 1/3 de C₁₈, Florisil e Chromosorb G/AW-DCMS foi definida para uso nos experimentos seguintes.

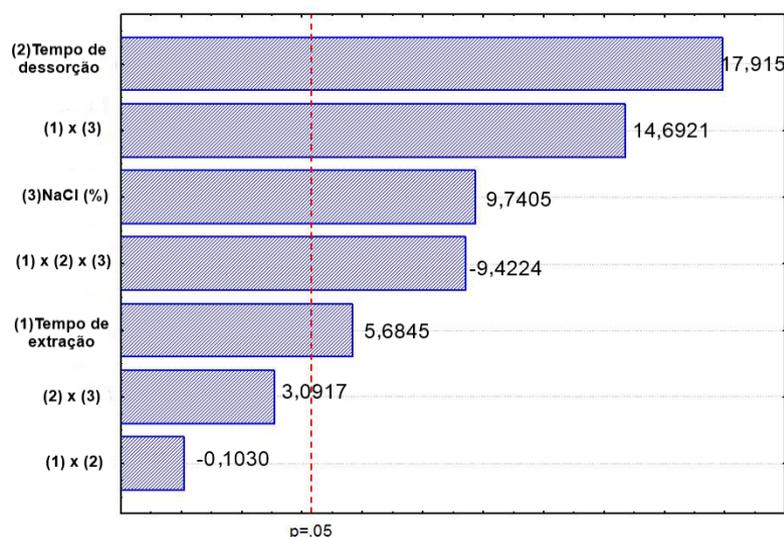
Figura 3.5 –Planejamento de misturas centróide-simplex para otimização das proporções dos sorventes na extração dos agrotóxicos. A) Gráfico de curvas de nível mostrando valores de resposta para o uso de sorventes puros, mistura binária e mistura ternária. B) Gráfico de estimativa de respostas.



3.3.4 Otimização da extração e dessorção de D- μ -SPE

Para avaliar a influência do tempo de extração, adição de sal (NaCl%) e tempo de dessorção na extração dos agrotóxicos, um planejamento fatorial completo 2^3 foi empregado na triagem dos fatores. De acordo com os resultados mostrados no gráfico de Pareto (Figura 3.6), todos os fatores acima mencionados afetaram a resposta em alguma extensão. O tempo de dessorção teve um efeito positivo significativo na resposta. Assim, é necessário um tempo mais longo para promover uma dessorção eficiente dos analitos. Como foram utilizados três sorventes com diferentes características para extrair todos os agrotóxicos simultaneamente, os analitos foram fortemente retidos nos sorventes e, portanto, tempos de dessorção mais longos foram requeridos. A adição de sal (NaCl%) também afetou positivamente a resposta. Valores elevados de área de pico foram observados quando o teor de NaCl foi aumentado. Embora a adição de sal não afete significativamente a resposta de moléculas hidrofóbicas, como a maioria dos agrotóxicos organoclorados, a extração dos agrotóxicos mais hidrofílicos é aumentada devido ao efeito de "*salting out*", que aumenta a polaridade da solução aquosa devido a uma mudança na força iônica da solução (FARAJZADEH; YADEGHARI; KHOSH MARAM, 2017; HUANG; KEE, 2015). Assim, a sorção desses agrotóxicos no sorvente é aumentada.

Figura 3.6 – Gráfico de Pareto de efeitos padronizados.



O tempo de extração teve um efeito significativo e positivo na resposta, ou seja, um tempo de extração mais longo é necessário para atingir a resposta máxima. A teoria que trata das técnicas de extração em meio aquoso mostra que quando uma fase orgânica imiscível, seja ela sólida ou líquida, é colocada em água, forma-se uma interface aquosa-orgânica (filme de Nerst) e a transferência de massa da fase aquosa para a fase orgânica ocorre por difusão através deste filme (JIANG; SZE; HIAN, 2005). Nas técnicas D- μ SPE, a extração assistida por vortex e a extração assistida por ultrassom são empregadas para facilitar o processo de transferência de massa, diminuindo a espessura do filme de Nerst (KHEZELI; DANESHFAR, 2017). A cinética de transferência de massa é geralmente mais lenta na agitação assistida por vortex, entretanto, o tempo de extração raramente excede a faixa de minutos (CHISVERT; CÁRDENAS; LUCENA, 2019). Os fatores de interação relacionados ao tempo de extração e adição de sal (NaCl%) foram altamente significativos, indicando que a combinação de um maior tempo de extração com uma maior porcentagem de NaCl melhora os valores de resposta (áreas de pico). Em contrapartida, a interação simultânea entre o tempo de extração, tempo de dessorção e porcentagem de NaCl leva a uma diminuição na resposta. Portanto, o tempo de extração, o tempo de dessorção e a porcentagem de NaCl foram estudados usando a matriz de Doehlert para encontrar a região de máxima resposta e seus valores críticos.

Os dados do planejamento fatorial completo 2^3 foram submetidos a ANOVA ($<0,05$) para avaliar a significância do modelo e da falta de ajuste. O modelo linear (termos significativos destacados em negrito) ajustado as respostas experimentais foi descrito pela seguinte expressão (Eq. 3.4):

$$\begin{aligned} \text{RM} = & \mathbf{30,75}_{(\pm 0,166)} + \mathbf{1,10}_{(\pm 0,194)}\text{TE} + \mathbf{3,48}_{(\pm 0,194)}\text{TD} + \mathbf{1,89}_{(\pm 0,194)}\text{NaCl} - \\ & 0,020_{(\pm 0,194)}\text{TE} \times \text{TD} + \mathbf{2,86}_{(\pm 0,194)}\text{TE} \times \text{NaCl} + 0,601_{(\pm 0,194)}\text{TD} \times \\ & \text{NaCl} - \mathbf{1,83}_{(\pm 0,194)}\text{TE} \times \text{TD} \times \text{NaCl} \end{aligned} \quad (3.4)$$

Os dados da ANOVA na Tabela 3.3 mostraram que o modelo linear foi bem ajustado às respostas experimentais, com a razão MQ_R/MQ_f igual a 53, que foi muito maior que o F crítico (8,89). Do mesmo modo, não houve evidência de significância de falta de ajuste, uma vez que a razão $\text{MQ}_{\text{faj}}/\text{MQ}_{\text{ep}} < F$ crítico. Os resíduos deixados

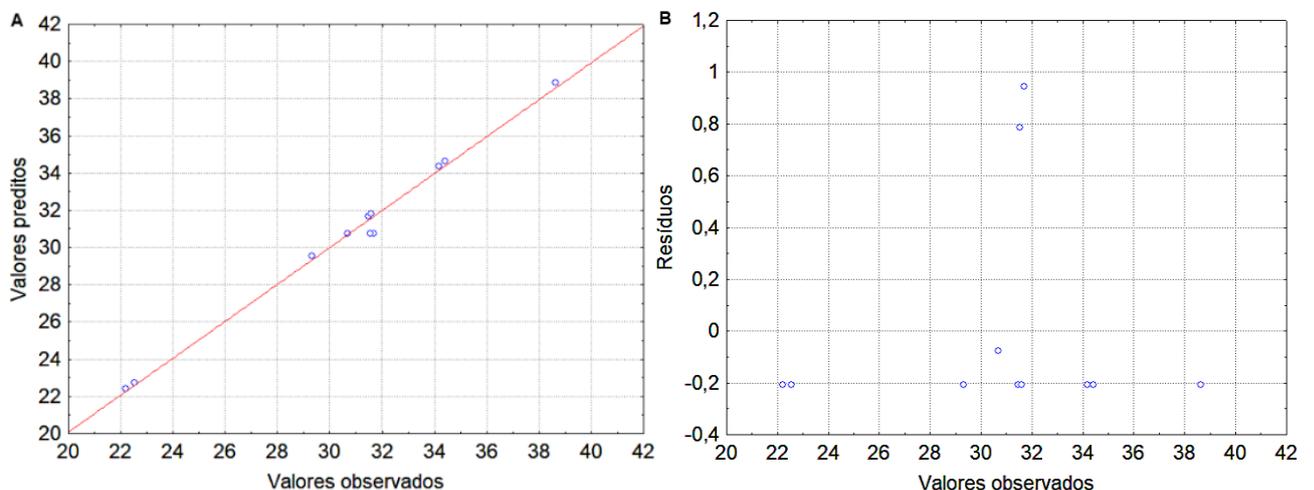
pelos modelos lineares foram baixos e sem nenhuma anormalidade ou tendência em sua distribuição (Figura 3.7).

Tabela 3.3 – ANOVA ($p < 0,05$) aplicada ao modelo linear do planejamento fatorial completo 2^3 .

Fonte de variação	SQ	gl	MQ	F	F(critico)
Regressão	230	7	32,9	53,0	8,89
Resíduos	1,86	3	0,620		
Falta de ajuste	1,26	1	1,26	4,16	18,5
Erro puro	0,604	2	0,302		

SQ = soma quadrática, df = grau de liberdade, MQ = média quadrática, F (critico) valor da distribuição F com 5 % de significância.

Figura 3.7 – Gráficos de valores preditos vs observados (A) e valores observados vs resíduos para o modelo linear do planejamento fatorial completo 2^3 .



A matriz Doehlert é uma MSR que permite o estudo de parâmetros em diferentes níveis usando menos experimentos do que outras metodologias de superfície de resposta, como o planejamento composto central e planejamento fatorial de três níveis (FERREIRA, S., 2004). Com base nos resultados obtidos através do planejamento fatorial completo, a matriz de Doehlert foi construída considerando os seguintes domínios experimentais: “tempo de extração”, que foi estudado em três

níveis (25 a 35 min), a “porcentagem de NaCl”, que foi avaliada em cinco níveis (de 4 % a 10 %) e o “tempo de dessorção”, que foi investigado em sete níveis (20 a 28 min). Os valores codificados e experimentais da matriz Doehlert são mostrados na Tabela 3.4A. Os coeficientes do modelo matemático foram obtidos pelo método dos mínimos quadrados usando o software Statistica 7.0. O seguinte modelo quadrático foi ajustado às respostas experimentais (Eq. 3.5):

$$\begin{aligned}
 \text{RM} = & \mathbf{38,02}_{(\pm 1,09)} - 1,12_{(\pm 0,669)}\text{NaCl}(\%) - \mathbf{3,35}_{(\pm 0,546)}\text{NaCl}(\%)^2 + \\
 & 0,277_{(\pm 1,15)}\text{Tempo de dessorção} - \mathbf{5,22}_{(\pm 1,64)}\text{Tempo de} \\
 & \mathbf{dessorção}^2 - 0,397_{(\pm 1,09)}\text{Extraction time} - \mathbf{5,74}_{(\pm 1,36)}\text{Tempo de} \\
 & \mathbf{extração} - 1,15_{(\pm 1,33)}\text{NaCl}(\%) \times \text{Tempo de dessorção} - \\
 & 0,994_{(\pm 1,41)}\text{NaCl}(\%) \times \text{Tempo de extração} - 3,50_{(\pm 2,44)}\text{Tempo de} \\
 & \text{dessorção} \times \text{Tempo de extração}
 \end{aligned} \tag{3.5}$$

Apenas os coeficientes destacados em negrito na Eq. 3.2 foram significativos considerando seu erro experimental (expresso como erro padrão). Além disso, os coeficientes significativos são negativos, indicando que os valores mais elevados de tempo de extração, tempo de dessorção e porcentagem de NaCl levaram a uma diminuição nos valores de RM. O uso de tempos de extração demasiadamente longos pode reverter o processo de sorção dos agrotóxicos, levando a uma diminuição na eficiência da extração. Da mesma forma, um tempo de dessorção excessivo sob sonicação, pode resultar na degradação de alguns agrotóxicos mais sensíveis, além de produzir um estado de equilíbrio onde os agrotóxicos são reabsorvidos pelo sorvente (BERISTAIN-MONTIEL *et al.*, 2016; XU; WANG; CAI, 2013). O excesso de NaCl resulta no aumento da viscosidade da solução e, portanto, na alteração das propriedades físicas do filme de difusão de Nerst. Assim, a difusão do analito na solução é afetada negativamente, e a eficiência de extração é significativamente comprometida (JIANG; SZE; HIAN, 2005).

Para avaliar a capacidade de previsão do modelo matemático, a ANOVA ($p < 0,05$) foi aplicada para verificar a significância do modelo matemático e a evidência de falta de ajuste. Conforme indicado na Tabela 3.4B, a razão de MQ_R/MQ_f foi de 17,5, enquanto F crítico foi igual a 3,39 (com 95% de confiança), indicando a significância

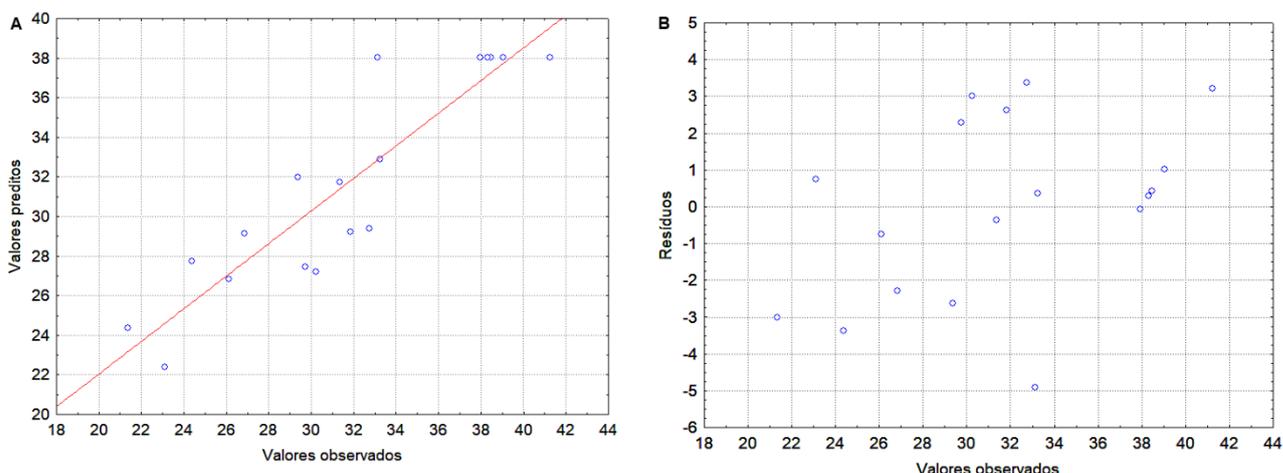
do modelo matemático. Por outro lado, o valor de MQ_{faj}/MQ_{ep} foi inferior ao F crítico (5,41). Assim, não houve evidência de significância falta de ajuste. O gráfico de valores observados vs valores preditos (Figura 3.8A) mostra que, embora o poder de previsão do modelo não tenha sido muito eficiente e algumas previsões tenham deixados resíduos consideravelmente elevados (Figura 3.8B), a maior parte das previsões deixaram resíduos aceitáveis considerando a complexidade do procedimento analítico utilizado. Deste modo, o modelo matemático foi considerado apto para ser usado na previsão do ponto ótimo.

Tabela 3.4 – Matriz do planejamento Doehlert para otimização da extração dos agrotóxicos por D- μ -SPE. Os valores experimentais dos fatores codificados são mostrados entre parênteses. B) ANOVA ($p < 0,05$) do modelo matemático obtido a partir da matriz de Doehlert.

A) Experimento	NaCl (%)	Tempo dessorção (min)	Tempo extração (min)	RM	
1	0(7)	0(24)	0(30)	33,1142	
2	1(10)	0(24)	0(30)	23,1117	
3	0,5(8,5)	0,866(28)	0(30)	29,7400	
4	0,5(8,5)	0,289(25,2)	0,817(35)	21,3614	
5	-1(4)	0(24)	0(30)	26,1112	
6	-0,5(5,5)	-0,866(20)	0(30)	26,8551	
7	-0,5(5,5)	-0,289(19,38)	-0,817(25)	30,2439	
8	0,5(8,5)	-0,866(20)	0(30)	31,8420	
9	0,5(8,5)	-0,289(19,38)	-0,817(25)	24,3772	
10	-0,5(5,5)	0,866(28)	0(30)	29,3636	
11	0(7)	0,577(26,4)	-0,817(25)	33,2329	
12	-0,5(5,5)	0,289(25,2)	0,817(35)	32,7437	
13	0(7)	-0,577(21,2)	0,817(35)	31,3668	
14	0(7)	0(24)	0(30)	39,0485	
15	0(7)	0(24)	0(30)	41,2410	
16	0(7)	0(24)	0(30)	38,4583	
17	0(7)	0(24)	0(30)	37,9510	
18	0(7)	0(24)	0(30)	38,3161	
B) Fonte de variação	SQ	gl	MQ	F(calculado)	F(crítico)
Regressão	514	9	514	17,5	3,39
Resíduos	102	8	29,3		
Falta de ajuste	66,6	3	22,2	3,10	5,41
Erro puro	35,8	5	7,16		

SQ: soma quadrática. gl: graus de liberdade. MQ: média quadrática. F(calculado): MQ_R/MQ_r para regressão do modelo matemático em relação aos resíduos e MQ_{faj}/MQ_{ep} para falta de ajuste em relação ao erro puro.

Figura 3.8 – Gráficos de valores preditos vs observados (A) e valores observados vs resíduos (B) para o modelo quadrático.



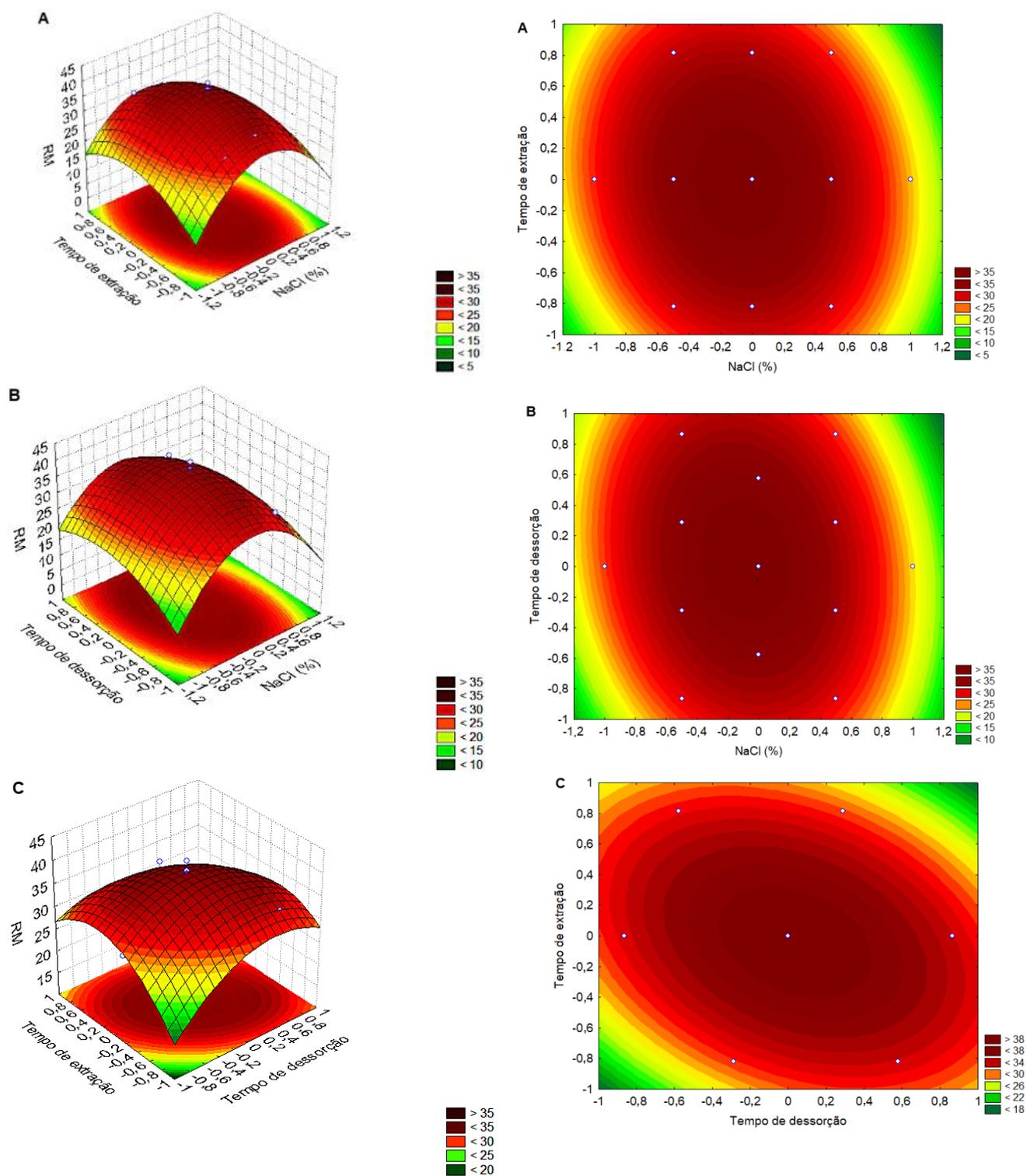
A superfície de resposta que representa graficamente o modelo matemático ajustado para a matriz de Doehlert de três variáveis é mostrada na Figura 3.9. Os pontos críticos desta superfície de resposta foram obtidos aplicando-se os critérios de Lagrange (FERREIRA, 2015; FERREIRA, S., 2004). Para obter os pontos críticos de uma função de três variáveis (Eq. 3.5), foi necessário calcular os determinantes de Hessian. Os determinantes de Hessian foram calculados conforme mostrado na Eq. 3.6, 3.7 e 3.8:

$$\Delta_{\text{NaCl}} = \frac{\delta^2 RM}{\delta \text{NaCl}^2} \quad (3.6)$$

$$\Delta_{\text{NaCl} \times \text{TE}} = \begin{vmatrix} \frac{\delta^2 RM}{\delta \text{NaCl}^2} & \frac{\delta^2 RM}{\delta \text{NaCl} \delta \text{TE}} \\ \frac{\delta^2 RM}{\delta \text{TE} \delta \text{NaCl}} & \frac{\delta^2 RM}{\delta \text{TE}^2} \end{vmatrix} \quad (3.7)$$

$$\Delta_{\text{TD} \times \text{TE} \times \text{NaCl}} = \begin{vmatrix} \frac{\delta^2 RM}{\delta \text{NaCl}^2} & \frac{\delta^2 RM}{\delta \text{NaCl} \delta \text{TE}} & \frac{\delta^2 RM}{\delta \text{TD} \delta \text{NaCl}} \\ \frac{\delta^2 RM}{\delta \text{TE} \delta \text{NaCl}} & \frac{\delta^2 RM}{\delta \text{TE}^2} & \frac{\delta^2 RM}{\delta \text{TE} \delta \text{TD}} \\ \frac{\delta^2 RM}{\delta \text{TD} \delta \text{NaCl}} & \frac{\delta^2 RM}{\delta \text{TD} \delta \text{TE}} & \frac{\delta^2 RM}{\text{TD}^2} \end{vmatrix} \quad (3.8)$$

Figura 3.9 – Superfície de resposta e curvas de nível obtidas da matriz de Doehlert. A) $RM = f(\text{tempo de extração}; \text{NaCl})$. B) $RM = f(\text{tempo de dessorção}; \text{NaCl})$. C) $RM = f(\text{tempo de extração}; \text{tempo de dessorção})$.



Se a função quadrática apresenta apenas um ponto estacionário, então o critério de Lagrange prevê quatro possibilidades (FERREIRA, 2015; FERREIRA 2004):

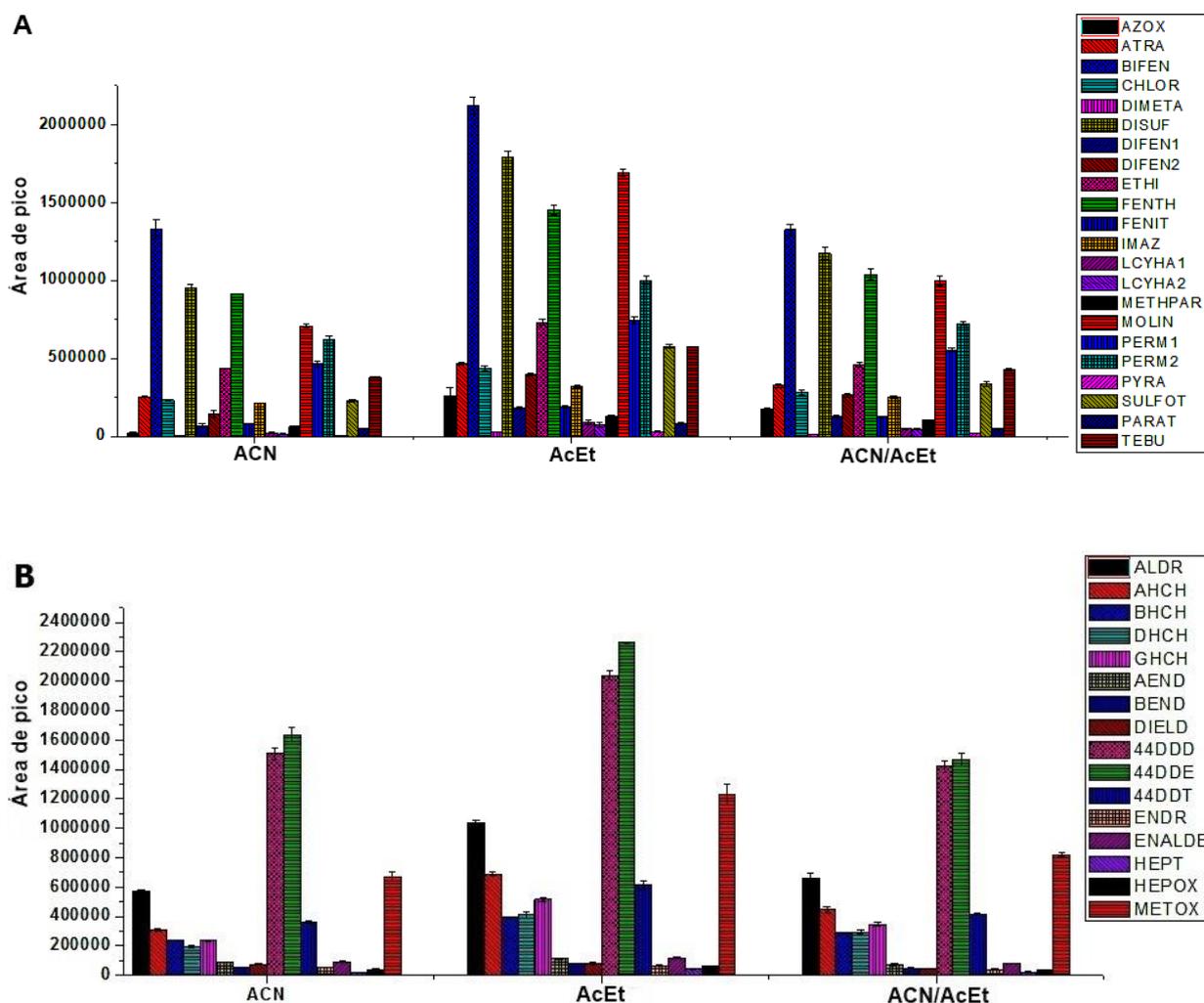
- (i) Há um ponto de estacionário de máximo se $\text{NaCl} < 0$, $\text{NaCl} (\%) \times \text{tempo de extração (TE)} > 0$, e $\text{NaCl} (\%) \times \text{tempo de extração (ET)} \times \text{tempo de dessorção (TD)} < 0$,
- (ii) Existe um ponto estacionário de mínimo quando $\text{NaCl} > 0$, $\text{NaCl} (\%) \times \text{tempo de extração (TE)} > 0$ e $\text{NaCl} (\%) \times \text{tempo de extração (TE)} \times \text{tempo de dessorção (TD)} > 0$.
- (iii) O critério não apresenta nenhuma informação se $\text{NaCl} (\%) \times \text{Tempo de extração (TE)} = 0$.
- (iv) Se nenhuma das situações descritas acima ocorrer, então há um ponto de sela.

As coordenadas dos pontos críticos para a porcentagem de NaCl, tempo de extração e tempo de dessorção foram -0,085563, 0,050256 e -0,030627, respectivamente, o que corresponde à 6,74% de NaCl, um tempo de extração de 30 min, e um tempo de dessorção de 24 min.

Outro fator que afeta significativamente o desempenho da D- μ -SPE é o tipo de solvente de dessorção. Neste estudo, ACN, AcEt e uma mistura 1:1 v/v entre eles foram testadas como solvente de dessorção. Estes solventes são empregados com frequência em etapas envolvendo dessorção de agrotóxicos de solventes diversos (MAO *et al.*, 2019). Como mostrado na Figura 3.10, houve um aumento nas áreas de pico dos agrotóxicos quando AcEt puro foi utilizado. Ao usar somente ACN ou uma mistura de 1:1 ACN/EtAc, nenhuma diferença significativa foi observada. Embora o ACN seja um solvente muito eficaz e seletivo para a extração de agrotóxicos, ele não é frequentemente usado como solvente em técnicas de cromatografia em fase gasosa devido ao seu alto volume de expansão (1 μL de ACN produz 499 μL de vapor), o que leva a uma diminuição nas áreas de pico em comparação com outros solventes (MAŠTOVSKÁ; LEHOTAY, 2004). Deste modo, nesta otimização, optou-se por selecionar somente o AcEt como o solvente de dessorção devido à sua baixa volatilidade, baixa toxicidade e custo relativamente baixo. Além disso, pode dessorver

agrotóxicos polares e de média polaridade, bem como a maioria dos agrotóxicos organoclorados hidrofóbicos (CHAHKANDI; AMIRI; ARAMI, 2019; HUANG; KEE, 2015).

Figura 3.10 – Estudo do solvente de dessorção. A) Áreas de pico para os agrotóxicos organofosforados, piretróides, estrobirulinas, triazóis e tiocarbamatos. B) Áreas de pico para os agrotóxicos organoclorados.

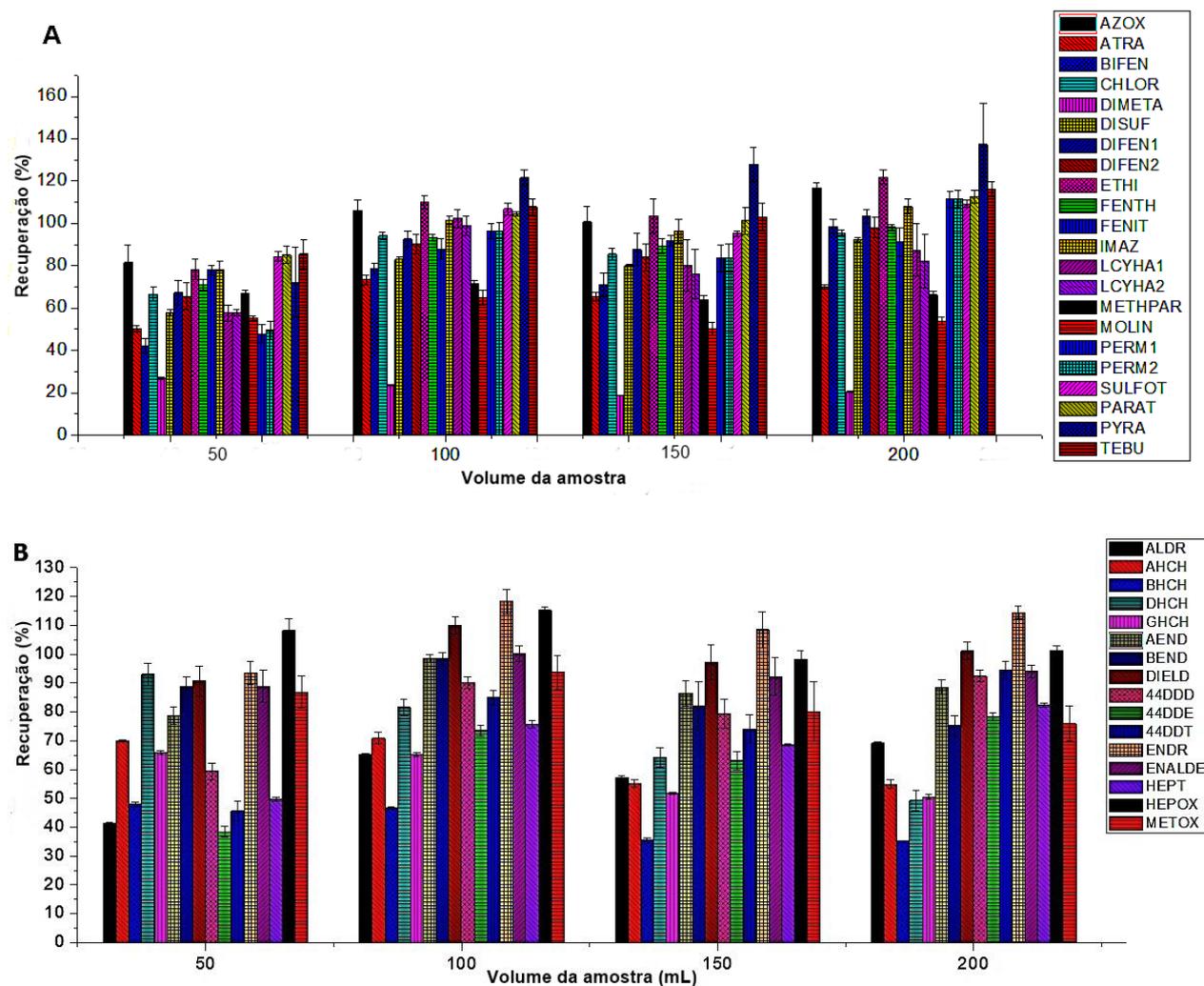


AZOX= azoxistrobina, ATRA= atrazina, BIFEN=bifentrina, CHLOR= clorpirifós, DIMETA=dimetoato, DISUF=disulfoton, DIFEN1=difenoconazol I, DIFEN2= difenoconazol II, ETHI = etion, FENTH= fention, FENIT= fenitroton, IMAZ= imazalil, LCYHA1= lambda-cialotrina I, LCYHA2= lambda- cialotrina II, METHPAR= metil paration, MOLIN= molinato, TEBU= tebuconazol, PERM1= permetrin I, PERM2= permetrin II, PYRA=piraclostrobina, SULFOT= sulfotep, PARAT= paration, ALDR= aldrin, AHCH= alfaa-HCH, BHCH= beta-HCH, DHCH= delta-HCH, GHCH= gama-HCH, AEDN= alfa-endosulfan, BEND= beta-endosulfan, DIELD= dieldrin, 44DDD= 4,4-DDD, 44DDE= 4,4-DDE, 44DDT= 4,4-DDT, ENDR= endrin, ENALDE= endrin-aldeído, HEPT= heptacloro, HEPOX= heptalocoro-epóxido, METOX= metoxicloro.

3.3.5 Estudo do volume da amostra

O volume da amostra é um parâmetro fundamental na otimização do procedimento D- μ -SPE. Um aumento no volume da amostra geralmente resulta em fatores de concentração mais elevados. No entanto, um volume de amostra acima da capacidade do sorvente pode levar a saturação do mesmo, resultando em uma perda de eficiência (MITRA, 2003; POOLE, 2003). Neste estudo, um volume de amostra de 50 a 200 mL foi estudado. Conforme mostrado na Figura 3.11, a maioria dos agrotóxicos estudados foram extraídos de forma eficiente ao se utilizar um volume de amostra de 100 mL. Ao usar um volume de amostra maior para a extração, a recuperação da extração (RE) para a maioria dos agrotóxicos diminuiu, indicando uma possível saturação do sorvente. Com base nisso, um volume de amostra de 100 mL foi selecionado para os experimentos seguintes.

Figura 3.11 – Estudo do volume da amostra. A) Recuperação da extração para os agrotóxicos organofosforados, piretróides, estrobirulinas, triazóis e tiocarbamatos. B) Recuperação da extração para agrotóxicos organoclorados.



AZOX= azoxistrobina, ATRA= atrazina, BIFEN=bifentrina, CHLOR= clorpirifós, DIMETA=dimetoato, DISUF=disulfoton, DIFEN1=difenoconazol I, DIFEN2= difenoconazol II, ETHI = etion, FENTH= fention, FENIT= fenitrotion, IMAZ= imazalil, LCYHA1= lambda-cialotrina I, LCYHA2= lambda- cialotrina II, METHPAR= metil paration, MOLIN= molinato, TEBU= tebuconazol, PERM1= permetrin I, PERM2= permetrin II, PYRA=piraclostrobina, SULFOT= sulfotep, PARAT= paration, ALDR= aldrin, AHCH= alfaa-HCH, BHCH= beta-HCH, DHCH= delta-HCH, GHCH= gama-HCH, AEDN= alfa-endosulfan, BEND= beta-endosulfan, DIELD= dieldrin, 44DDD= 4,4-DDD, 44DDE= 4,4-DDE, 44DDT= 4,4-DDT, ENDR= endrin, ENALDE= endrin-aldeído, HEPT= heptacloro, HEPOX= heptalocoro-epóxido, METOX= metoxicloro.

3.3.5 Validação do procedimento analítico e comparação com outros procedimentos publicados na literatura

A validação do procedimento analítico é um componente essencial dos protocolos que um laboratório deve seguir para permitir que o procedimento desenvolvido produza resultados confiáveis do ponto de vista analítico. A validação de um procedimento analítico pode ser realizada como *single-laboratory method validation* (validação no laboratório) ou *full-validation* (validação completa) (THOMPSON; ELLISON; WOOD, 2002). A validação no laboratório se refere aos protocolos de validação que são seguidos dentro de um único laboratório. Este tipo de validação é bastante útil para validar procedimentos desenvolvidos no laboratório e para avaliar a aplicabilidade de outros métodos descritos na literatura (RIBANI *et al.*, 2004). Em contrapartida, a validação completa envolve ensaios colaborativos com uma rede de laboratórios credenciados, devendo seguir protocolos internacionalmente aceitos. No entanto, nem sempre é possível implementar um sistema de validação completa e, neste caso, a validação parcial pode ser adotada desde que esteja de acordo com a legislação referente à análise a ser realizada (THOMPSON; ELLISON; WOOD, 2002).

Quando se emprega técnicas cromatográficas, os critérios ou as figuras de mérito a serem avaliadas, geralmente são: seletividade, linearidade, limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ), precisão (intradia e interdias) e exatidão (THOMPSON; ELLISON; WOOD, 2002; YUWONO; INDRAYANTO, 2005). O efeito de matriz pode afetar seriamente a qualidade dos dados analíticos e também deve ser considerado na etapa de validação. Quando se emprega a D- μ SPE é necessário comprovar o grau de eficiência da técnica. Para isso, são realizados experimentos para se calcular os fatores de concentração (FC) bem como os níveis de recuperação absoluta ou recuperação da extração (RE).

O procedimento desenvolvido foi validado de acordo com as figuras de mérito recomendadas pela IUPAC (Tabela 3.5). De modo geral, foram obtidos bons coeficientes de determinação para todas as curvas analíticas, os quais variaram de 0,9912 (paration) a 0,9994 (lambda-cialotrina). Um teste de falta de ajuste aplicado através da ANOVA ($p < 0,05$) mostrou que não houve evidências que sugerissem falta

de ajuste nas curvas analíticas investigadas (Tabela 3.5). Assim todas as curvas analíticas foram lineares no intervalo de concentração estudado.

Tabela 3.5 – Parâmetros de validação do procedimento desenvolvido (continua).

Agrotóxicos	Faixa linear		Linearidade		Precisão		LD (ng L ⁻¹)	LQ (ng L ⁻¹)	FC (±SD)	RE % (±SD)
	(ng L ⁻¹)	R ²	(p < 0,05) ^b	Regressão	Intradia (n=7)	Inter-dia (n=21)				
4,4-DDD	2,00 - 26	0,9972	0,0550	y = 472,51 _(±5,91) C + 757,31 _(±94,8)	4,86	13,2	0,60	2,00	199 ± 3	99,3 ± 1,5
4,4-DDE	1,71 - 30	0,9977	0,0542	y = 498,24 _(±5,33) C + 52,61 _(±87,7)	1,87	4,62	0,51	1,71	141 ± 1	70,4 ± 0,7
4,4-DDT	2,78 - 26	0,9949	0,0513	y = 204,11 _(±3,44) C + 832,26 _(±56,9)	7,25	17,4	0,83	2,78	122 ± 1	60,8 ± 0,5
Aldrin	1,87 - 30	0,9977	0,3081	y = 199,4 _(±2,24) C + 118,9 _(±37,5)	2,03	4,55	0,56	1,87	103 ± 1	51,7 ± 0,6
Alfa - HCH	3,19 - 30	0,9940	0,0690	y = 114,76 _(±2,09) C + 346,1 _(±36,7)	3,01	5,43	0,96	3,19	151 ± 3	75,7 ± 1,4
Alfa-endosulfan	3,24 - 30	0,9958	0,5046	y = 56,78 _(±0,95) C + 107,7 _(±18,4)	3,74	4,18	0,97	3,24	141 ± 6	71,9 ± 2,9
Atrazina	36,7 - 600	0,9976	0,0635	y = 66,527 _(±0,74) C - 882,58 _(±244)	2,66	13,4	11,0	36,7	146 ± 5	73,2 ± 2,3
Atrazina-d ₅ *	29,1 - 600	0,9976	0,0759	y = 82,182 _(±0,74) C - 112,64 _(±238)	2,56	13,8	8,70	29,1	177 ± 5	88,6 ± 2,3
Azoxistrobina	61,4 - 600	0,9953	0,5107	y = 17,526 _(±0,29) C + 168,26 _(±108)	4,28	20,8	18,4	61,4	166 ± 6	82,9 ± 2,7
Beta-endosulfan	37,3 - 600	0,9980	0,2859	y = 15,419 _(±0,17) C + 11,744 _(±58,2)	1,86	7,09	11,3	37,7	151 ± 10	78,0 ± 2,8
Beta-HCH	2,65 - 30	0,9965	0,1682	y = 79,353 _(±1,11) C + 657,92 _(±21,1)	2,72	4,56	0,79	2,65	112 ± 3	55,9 ± 1,4
Bifentrina	1,92 - 26	0,9976	0,6178	y = 220,97 _(±2,69) C + 314,79 _(±42,5)	8,67	19,6	0,57	1,92	195 ± 4	97,3 ± 1,9
Corpirifós	2,82 - 30	0,9956	0,1447	y = 36,975 _(±0,51) C + 2215,6 _(±167)	5,05	18,4	13,6	2,82	191 ± 4	95,4 ± 2,2
DCB*	25,0 - 400	0,9987	0,1542	y = 84,786 _(±1,25) C + 495,17 _(±24,0)	6,29	7,26	0,84	25,0	122 ± 7	94,9 ± 1,1
Delta-HCH	4,11 - 26	0,9922	0,6956	y = 3,0869 _(±0,033) C + 5,4819 _(±7,73)	3,44	10,4	7,51	4,12	102 ± 2	51,2 ± 1,2
Dieldrin	2,29 - 30	0,9970	0,7230	y = 31,494 _(±0,88) C + 378,33 _(±13,0)	2,54	7,18	1,23	2,29	100 ± 0	50,4 ± 0,1
Difeconazol I	60,1 - 600	0,9954	0,1629	y = 214,76 _(±3,05) C + 770,96 _(±57,0)	8,05	14,4	0,80	60,1	198 ± 10	99,2 ± 5,2
Difeconazol II	55,0 - 600	0,9968	0,0779	y = 37,427 _(±0,46) C + 113,37 _(±8,59)	8,63	13,7	0,68	55,0	190 ± 11	95,2 ± 5,7
Dimetoato	74,5 - 600	0,9942	0,5441	y = 7,6581 _(±0,13) C + 21,307 _(±46,0)	8,62	8,36	18,0	74,5	72,5 ± 1,2	36,2 ± 0,6
Disulfoton	2,91 - 30	0,9944	0,2084	y = 11,804 _(±0,18) C - 12,63 _(±65,0)	4,49	12,3	16,53	2,91	160 ± 5	80,1 ± 2,3
Endrin	4,46 - 30	0,9918	0,4274	y = 2,5809 _(±0,05) C + 441,44 _(±19,2)	4,61	4,86	22,4	4,46	131 ± 10	65,7 ± 4,9
Endrin aldeído	37,9 - 600	0,9972	0,1525	y = 160,91 _(±2,85) C - 110,21 _(±46,9)	2,28	9,33	0,87	37,9	177 ± 10	88,4 ± 4,9

Tabela 3.5 – Parâmetros de validação do procedimento desenvolvido (conclusão). Os padrões *surrogates* são destacados com (*).

Agrotóxicos	Faixa linear		Linearidade		Precisão		LD (ng L ⁻¹)	LQ (ng L ⁻¹)	FC (±SD)	RE % (±SD)
	(ng L ⁻¹)	R ²	(p < 0,05) ^b	Regressão (y=ax _(±Sa) + b _(±Sb))	Intradia	Inter-dia				
					(n=7)	(n=21)				
Etion	2,85 - 26	0,9960	0,0576	y = 34,273 _(±0,86) C + 480,43 _(±15,31)	6,42	9,48	1,34	2,84	190 ± 2	94,9 ± 1,1
Fenitroton	41,5 - 600	0,9966	0,0574	y = 23,273 _(±0,29) C - 209,53 _(±88,3)	6,07	15,9	11,4	41,5	134 ± 8	70,9 ± 2,6
Fention	2,57 - 30	0,9957	0,7333	y = 79,297 _(±1,40) C + 155,79 _(±22,6)	6,34	19,2	0,86	2,57	200 ± 0	100 ± 0
Fention-d ₃ *	24,9 - 600	0,9992	0,2877	y = 39,579 _(±0,51) C - 498,22 _(±164)	2,25	13,9	12,5	24,9	192 ± 4	95,8 ± 2,2
gama-HCH	3,55 - 30	0,9953	0,1931	y = 171,03 _(±2,38) C + 60,575 _(±44)	14,3	19,0	0,77	3,55	121 ± 5	61,7 ± 1,4
Heptacloro	43,2 - 600	0,9963	0,1541	y = 55,127 _(±0,41) C - 525,57 _(±137)	2,21	8,51	7,47	43,2	195 ± 7	97,3 ± 3,5
Heptacloro-epóxido	68,3 - 600	0,9940	0,0759	y = 89,266 _(±1,77) C + 596,33 _(±31,7)	17,8	18,6	1,10	68,3	196 ± 4	98,0 ± 2,1
Imazalil	47,9 - 600	0,9958	0,0816	y = 89,342 _(±1,25) C - 2735 _(±387)	1,71	8,00	13,0	47,9	196 ± 6	97,9 ± 2,8
L-cialotrina I	63,2 - 600	0,9943	0,2246	y = 9,5904 _(±0,19) C + 1695,6 _(±65,6)	7,91	14,7	20,5	63,2	93,4 ± 7,7	46,7 ± 3,9
L-cialotrina II	24,9 - 600	0,9994	0,0964	y = 21,906 _(±0,31) C - 422,13 _(±105)	8,15	14,4	14,4	24,9	97,7 ± 4,5	48,8 ± 2,2
Malation	55,1 - 600	0,9953	0,0788	y = 10,796 _(±0,23) C - 142,57 _(±68,3)	7,16	17,6	19,0	55,1	159 ± 3	80,4 ± 1,2
Metoxicloro	1,72 - 26	0,9980	0,9444	y = 8,5606 _(±0,062) C + 30,685 _(±21,3)	6,67	14,9	7,48	1,72	150 ± 4	75,0 ± 2,0
Metil paration	40,7 - 600	0,9961	0,0699	y = 18,753 _(±0,30) C + 658,84 _(±103)	3,99	11,9	16,6	40,8	124 ± 5	62,1 ± 2,4
Molinato	3,30 - 30	0,9943	0,2375	y = 379,48 _(±4,28) C + 168,31 _(±65,4)	3,37	6,09	0,52	3,30	190 ± 2	95,2 ± 1,0
Paration	4,05 - 26	0,9912	0,1792	y = 41 _(±0,59) C - 338,54 _(±167)	3,70	4,98	12,2	4,05	124 ± 4	61,9 ± 1,8
PCB103*	62,8 - 600	0,9956	0,3122	y = 228,76 _(±4,1) C + 275,26 _(±75,6)	10,8	20,1	0,99	62,8	24,3 ± 3,0	12,1 ± 1,5
Permetrina I	1,82 - 26	0,9968	0,4766	y = 22,421 _(±0,54) C + 12,957 _(±9,1)	8,88	16,8	1,21	1,82	189 ± 6	94,3 ± 3,0
Permetrina II	2,10 - 26	0,9968	0,2616	y = 2,4657 _(±0,052) C + 203,31 _(±15,5)	4,53	13,1	18,9	2,10	180 ± 3	90,6 ± 1,5
Praclostrobina	36,8 - 600	0,9982	0,2207	y = 111,97 _(±0,95) C + 93,042 _(±15,4)	6,00	6,20	0,55	36,8	163 ± 14	81,3 ± 7,0
Sulfotep	3,87 - 30	0,9915	0,0858	y = 111,97 _(±1,45) C + 93,042 _(±23,5)	5,04	17,4	0,63	3,87	180 ± 8	91,6 ± 3,2
TCMX*	28,2 - 500	0,9985	0,7899	y = 4,8689 _(±0,050) C + 95,461 _(±17,9)	1,51	2,28	11,0	28,2	72,2 ± 2,5	36,1 ± 1,3
Tebuconazol	3,61 - 26	0,9948	0,1575	y = 71,631 _(±1,52) C + 113,92 _(±27,8)	2,21	14,2	1,16	3,61	200 ± 2	100 ± 2

O procedimento desenvolvido apresentou baixos valores de LD e LQ. O LD variou de 0,51 ng L⁻¹ (4,4-DDE) a 22,4 ng L⁻¹ (dimetoato) (Tabela 3.5), enquanto o LOQ variou de 1,71 ng L⁻¹ a 74,5 ng L⁻¹ para os estes mesmos agrotóxicos. Em comparação com outros procedimentos reportados na literatura, foram obtidos valores de LQ inferiores aos obtidos por Amiri et al. (2019), que obteve valores de LQ variando de 99 ng L⁻¹ a 693 ng L⁻¹. Huang e Lee (2015) desenvolveram um método D- μ -SPE para a extração de cinco agrotóxicos organoclorados de amostras coletadas no Rio Singapura e obtiveram valores de LQ que variam de 10 ng L⁻¹ (4,4-DDD) a 74 ng L⁻¹ (dieldrin). Neste estudo, os mesmos agrotóxicos apresentaram valores de LQ variando de 0,60 ng L⁻¹ (4,4-DDD) a 0,68 ng L⁻¹ (dieldrin). Uma comparação com outros procedimentos de extração em fase sólida podem ser vista na Tabela 3.6.

Em relação à precisão, a maioria dos agrotóxicos estudados apresentou valores de precisão intradia abaixo de 10 %, exceto para gama-HCH, heptacloro-epóxido e PCB198 (Tabela 3.5). Em geral, o RSD para a precisão intradia variou de 1,51% (TCMX) a 17,8% (heptacloro-epóxido), enquanto o RSD para precisão interdia variou de 2,28% (TCMX) a 20% (azoxistrobina). A faixa aceitável de RSD para precisão varia de acordo com a concentração do analito na amostra. Em concentrações menores ou iguais a 1,0 g μ g L⁻¹, o RSD deve estar dentro de 30% (YUWONO; INDRAYANTO, 2005). No entanto, neste estudo, consideramos um RSD adequado \leq 20%.

Tabela 3.6 – Comparação do desempenho analítico do procedimento desenvolvido com outros trabalhos publicados recentemente.

Técnica	Tipo de sorvente	GQA	VA (mL)	SD	SDV (mL)	E+D (min)	LQ ($\mu\text{g L}^{-1}$)	RR (%)	Ref.
d- μ -SPE	C ₁₈ /Forisil/Chromosorb	1 THIO, 1 TRIA, 1 IMID, 2 TRIAZ, 2 STR, 3 PYR, 10 OPP, 12 OCP	100	AcEt	0,500	54	0,0017– 0,0745	62,3-123	Este trabalho
SBSE	SMNMa	4 OPP, 1 ISTO	60	ACN	1,500	57	0,23 – 2,94	82,6-104	(GORJI <i>et al.</i> , 2019)
d- μ -SPE	Zn-MOFb	5 OPP	20	ACN	0,200	~12	0,099 – 0,693	91,9-99,5	(AMIRI <i>et al.</i> , 2019)
d- μ -SPE/MSPE	Fe ₃ O ₄ @PDA-DES	4 SUP	100	ACN	1,50	~23	0,03 – 0,036	72,5-108	(WANG, D. D. <i>et al.</i> , 2019)
d- μ -SPE/MSPE	Fe ₃ O ₄ @SiO ₂ @KIT-6	4 PYR	100	ACN	2,00	~12	0,04 – 0,018	86,6-98,8	(ZHANG, MEIXING <i>et al.</i> , 2019)
MIP-SPE	MIP	4 OPP	50	MeOH/Hac	1,50	-	0,23 – 0,41	79-104	(ARIAS <i>et al.</i> , 2020)
d- μ -SPE	Fe ₃ O ₄ @TGA@TMU6	3 OPP	25	1-ButOH	0,100	35	1,65 – 3,30	88-107	(SHAKOURIAN; YAMINI; SAFARI, 2020)
SPE	PDMAT microbeads	11 OPP	100	DCM	10,0	-	0,006 – 1,99	69-139	(TÜMAY ÖZER; OSMAN; PARLAK, 2020)
SPE	PEG-CNT	5 OPP	70	ACN	0,800	-	0,033 – 0,099	95,2-99,8	(AMIRI; BAGHAYERI; VAHDAT NASAB, 2020)
d- μ -SPE/MSPE	Fe ₃ O ₄ @APTESGO/ZIF-8	4 TRZ	30	MeOH	1,50	18	0,033 – 0,363	71,2-111	(SENOSY <i>et al.</i> , 2020)
d- μ -SPE	MIL-101	5 OCP	10	AcEt	0,100	55	0,0083 – 0,053	87,6-98,6	(HUANG; KEE, 2015)
d- μ -SPE/MSPE	KHA/Fe ₃ O ₄	5 OPP	30	MeOH	0,250	10	0,099 – 0,330	93,4-99,3	(CHAHKANDI; AMIRI; ARAMI, 2019)

OPP= organofosforados, OCP= organoclorados, ISTO = isotiazolidina, PYR = piretróides, TRZ= triazol, THIO= tiocarbamatos, TRIA= triazina, IMID= imidazol, TRIAZ = triazol, STR= estrobirulina, SUF= sulfoniluréia, ACN= acetoneitrila, MeOH= metanol, 1-ButOH= 1-butanol, DCM= diclorometano, HAC= ácido acético, AcEt= acetato de etila, GQA= grupo químico do agrotóxico, VA= volume da amostra, SD= solvente de dessorção, VSD= volume solvente dessorção, E+D= tempo de extração + dessorção, RR(%)= recuperação relativa, LQ= limite de quantificação, FC= fator de pré-concentração.

A eficiência do procedimento de extração foi avaliada por meio do fator de pré-concentração (FC) e da recuperação da extração (RE) (Tabela 3.5). Os valores de FC e RE para os agrotóxicos avaliados variaram de $72,5 \pm 1,2$ (dimetoato) a 200 ± 2 (tebuconazol) e $36,2 \pm 0,6\%$ a $100 \pm 2\%$, respectivamente, para os mesmos agrotóxicos. Apesar da maioria dos agrotóxicos investigados apresentarem valores relativamente elevados de FC e RE ($\geq 70\%$), alguns agrotóxicos organoclorados, como 4,4-DDT, aldrin, dieldrin, isômeros hexaclorociclohexano (HCH) e piretróide, como lambda-cialotrina, exibiram valores de RE inferiores a 61 %. Os valores de ER mais baixos (12,1% a 36,1%) foram observados para os padrões *surrogates*, por exemplo TCMX e PC103. Isso pode ser atribuído à alta hidrofobicidade desses agrotóxicos, que apresentam valores de log kow variando de 3,7 (dieldrin) a 6,9 (4,4-DDT). Como eles foram fortemente retidos no sorvente C₁₈ e, em menor extensão, nos sorventes Florisil e Chromosorb G/AW-DCMS, um solvente de dessorção apolar, como *n*-hexano, poderia ser usado para melhorar a extração desses compostos. No entanto, os valores de FC e RE dos agrotóxicos mais polares e de média polaridade seriam afetados negativamente. Em contrapartida, o dimetoato (log Kow 0,75), que é mais polar, exibiu baixos valores de FC e RE. Neste caso, a presença de grupos silanóis residuais no sorvente C₁₈ pode ter afetado extração deste agrotóxico devido a forte retenção através de ligações de hidrogênio (BUSZEWSKI; SZULTKA, 2012).

Em relação à exatidão, não existe material de referência certificado disponível comercialmente para a certificação dos agrotóxicos investigados em amostras de água. Assim, a exatidão do procedimento desenvolvido foi avaliada por meio de testes de recuperação. Para avaliar o efeito da matriz entre duas amostras de água diferentes (ampla faixa de salinidade), contaminamos as amostras de água doce e água do mar com quantidades conhecidas de agrotóxicos (6,0 ng L⁻¹ e 18 ng L⁻¹, e 50 ng L⁻¹ e 300 ng L⁻¹, respectivamente). Conforme mostrado na Tabela 3.7, as recuperações relativas para os agrotóxicos extraídos da água doce variaram de 74,2% (endrina) a 123% (molinato), com um RSD <17%.

Tabela 3.7 – Recuperações relativas (média ± RSD, n = 3) obtidas pela aplicação do procedimento proposto na extração de agrotóxicos de amostras de água doce e do mar. *Os valores de recuperação para esses agrotóxicos foram obtidos a partir de amostras em níveis de concentração de 75 ng L⁻¹ e na faixa de 300 ng L⁻¹.

Grupo#1	Água doce		Água do mar		Grupo#2	Água doce		Água do mar	
	Nível baixo Adição	Nível alto Adição	Nível baixo Adição	Nível alto Adição		Nível baixo Adição	Nível alto Adição	Nível baixo Adição	Nível alto Adição
Agrotóxicos	6,0 ng L ⁻¹	18 ng L ⁻¹	6,0 ng L ⁻¹	18 ng L ⁻¹	Agrotóxicos	50 ng L ⁻¹	300 ng L ⁻¹	50 ng L ⁻¹	300 ng L ⁻¹
4,4-DDD	103 ± 10	108 ± 5	102 ± 3	100 ± 1	Atrazina	114 ± 3	101 ± 2	82,6 ± 3,0	91,8 ± 8,7
4,4-DDE	99,1 ± 9,9	112 ± 7	107 ± 1	120 ± 1	Atrazina-d ₅	109 ± 6	101 ± 2	88,1 ± 4,6	86,9 ± 3,8
4,4-DDT	88,5 ± 14,8	91,0 ± 5,8	99,5 ± 0,9	101 ± 1	Azoxistrobina*	116 ± 3	89,2 ± 6,1	96,5 ± 4,5	99,3 ± 3,9
Aldrin	101 ± 9	106 ± 8	96,4 ± 4,7	117 ± 2	Beta-endosulfan	91,8 ± 7,9	99,1 ± 2,5	77,7 ± 1,7	109 ± 5
Alfa-HCH	87,7 ± 12,9	94,2 ± 1,3	88,5 ± 2,4	115 ± 10	DCB	87,2 ± 16,8	80,8 ± 5,1	84,9 ± 1,6	87,8 ± 3,2
Alfa-endosulfan	82,9 ± 5,2	94,3 ± 4,0	80,4 ± 1,3	84,1 ± 3,4	Difeconazol I*	109 ± 8	87,9 ± 0,7	85,0 ± 4,0	88,5 ± 0,4
Beta-HCH	98,8 ± 11,6	90,7 ± 10,8	88,8 ± 10,2	109 ± 4	Difeconazol II*	86,4 ± 16,8	84,3 ± 1,0	98,5 ± 0,2	92,6 ± 0,1
Bifentrina	97,9 ± 1	107 ± 8	80,8 ± 8,1	91,2 ± 1,9	Dimetoate*	92,7 ± 13,0	96,8 ± 6,7	85,2 ± 10,9	100 ± 11
Clorpirifós	90,0 ± 9,7	81,3 ± 2,0	83,0 ± 6,9	92,1 ± 10,8	Endrin aldeído	74,5 ± 0,7	96,5 ± 2,3	76,5 ± 2,0	80,7 ± 3,2
Delta-HCH	88,4 ± 5,4	96,5 ± 14,7	81,5 ± 3,0	83,2 ± 8,4	Fenitrothion	101 ± 13	104 ± 4	78,3 ± 4,7	101 ± 4
Dieldrin	78,1 ± 4,4	81,4 ± 5,2	94,5 ± 2,1	102 ± 3	Fention-d ₃	93,1 ± 2,2	91,1 ± 0,34	95,5 ± 2,8	91,0 ± 2,7
Disulfoton	86,4 ± 11,1	99,8 ± 4,7	96,0 ± 2,9	102 ± 7	Heptacloro	115 ± 3	96,4 ± 1,4	80,6 ± 13,8	82,2 ± 3,9
Endrin	74,2 ± 6,5	87,7 ± 9,2	88,0 ± 1,2	91,3 ± 1,5	Heptacloro-epoxido*	76,8 ± 8,8	74,0 ± 3,9	89,6 ± 2,4	98,9 ± 2,2
Etion	111 ± 5	116 ± 2	89,7 ± 4,7	104 ± 3	Imazalil	103 ± 2	93,3 ± 4,3	95,9 ± 8,7	94,5 ± 4,7
Fention	87,6 ± 6,6	101 ± 1	92,8 ± 4,6	93,9 ± 0,8	L-cialotrina I*	82,0 ± 0,6	81,4 ± 2,3	88,2 ± 3,1	103 ± 11
Gama-HCH	90,3 ± 1,9	84,7 ± 2,4	105 ± 12	90,0 ± 6,4	L-cialotrina II*	82,1 ± 0,8	80,5 ± 1,4	95,6 ± 4	116 ± 5
Metoxicloro	102 ± 6	111 ± 7	78,1 ± 1,3	86,4 ± 1,3	Malation*	62,2 ± 5,3	84,1 ± 7,2	98,2 ± 0,8	102 ± 13
Molinato	77,8 ± 16	92,1 ± 5,3	90,3 ± 13,8	123 ± 4	Metil paration	108 ± 9	102 ± 2	90,3 ± 9,5	86,4 ± 4,5
Paration	81,3 ± 5,8	82,1 ± 4,4	89,6 ± 5,3	92,4 ± 3,4	PCB103*	74,4 ± 2,9	103 ± 2	108 ± 3	104 ± 5
Permetrina I	89,5 ± 11,9	80,1 ± 1,9	89,0 ± 10,3	108 ± 5	Piraclostrobina	94,5 ± 11,9	102 ± 9	79,8 ± 7,0	113 ± 4
Permetrina II	98,5 ± 2,3	93,8 ± 6,3	106 ± 4	111 ± 5	TCMX	86,4 ± 7,5	123 ± 2	100 ± 4	105 ± 2
Sulfotep	110 ± 9	106 ± 6	92,0 ± 4,7	108 ± 4					
Tebuconazol	93,6 ± 9,0	98,5 ± 12,2	99,7 ± 2,2	113 ± 3					

Em relação a água do mar, as recuperações relativas variaram de 76,5% (endrin aldeído) a 120% (4,4-DDE) com um RSD <14%. Embora a água do mar tenha uma salinidade elevada em comparação com a água doce, não foram observadas discrepâncias entre os valores de recuperação dos agrotóxicos extraído das duas matrizes. Para alguns dos agrotóxicos hidrofóbicos, como aldeído de endrina (log Kow 4,80), heptacloro (log Kow 5,44), fenitrothion (log Kow 3,32) e bifentrina (log Kow 6,6), foi observada uma ligeira diminuição nos valores de recuperação. Isso pode ser atribuído à elevada quantidade de sólidos dissolvidos na água do mar e sua elevada salinidade, o que pode afetar a interação analito-sorvente devido ao aumento da viscosidade da solução. Em contrapartida, o malation, um agrotóxico relativamente hidrofílico (log Kow 2,75), exibiu uma diminuição nos valores de recuperação em água doce. Nesse caso, a amostra de água doce, a qual foi coletada em um rio, apresentou uma pequena quantidade de matéria orgânica dissolvida. Alguns compostos encontrados na matéria orgânica dissolvida (por exemplo, ácido húmico, ácido flúvico ou ácidos graxos) podem competir com os sítios ativos dos sorventes, reduzindo a eficácia de retenção desses agrotóxicos (MITRA, 2003; POOLE, 2003). Porém, vale ressaltar que as recuperações em ambas as amostras ficaram dentro de níveis aceitáveis, considerando a faixa de concentração dos analitos (YUWONO; INDRAYANTO, 2005).

Conforme mostrado na Tabela 3.6, os parâmetros analíticos do procedimento D- μ -SPE desenvolvido foram comparados com outros procedimentos SPE e D- μ -SPE relatados recentemente para extração de agrotóxicos. Apesar de consumir um volume de amostra considerável (100 mL), ele empregou baixos volumes de solventes orgânicos (500 μ L). Isso levou a uma redução na geração de resíduos e atendeu aos princípios fundamentais da Química Analítica Verde.

O procedimento desenvolvido também forneceu baixos valores de LQ em comparação com outros trabalhos publicados. Em relação ao tempo total de extração, o procedimento desenvolvido teve um tempo total de 54 min (extração + dessorção). Apesar de outros procedimentos D- μ -SPE que empregaram a extração assistida por ultrassom fornecerem tempos de extração mais curtos (10–35 min), nosso procedimento permitiu a extração simultânea de 11 amostras por batelada, aumentando a capacidade de processamento de amostra. Considerando-se as etapas combinadas, desde o preparo da amostra até a injeção, é possível analisar cerca de

44 amostras por dia e determinar 39 agrotóxicos por amostra. Dessa forma, esse procedimento se mostra adequado para o monitoramento ambiental de agrotóxicos em corpos d'água.

3.3.6 Aplicação em amostras reais

O procedimento desenvolvido foi aplicado na determinação de resíduos agrotóxicos de diferentes grupos químicos em amostras de água doce e água do mar. Para cada amostra, padrões *surrogate* foram adicionados e suas recuperações foram calculadas. Dos 39 agrotóxicos avaliados, três foram detectados nas amostras de água doce (Tabela 3.8). O molinato e a atrazina estiveram abaixo do LD, enquanto lambda-cialotrina foi detectada abaixo do LQ. O inseticida e acaricida dimetoato foi encontrado em concentrações variando de <LD a 120 ng L⁻¹. O uso deste agrotóxico organofosforado é permitido no Brasil para o manejo de insetos em culturas de algodão, citros, maçã, tomate e trigo (ANVISA, 2020). Além disso, é altamente solúvel em água (25,9 g L⁻¹) e tem um baixo coeficiente de partição (Kow <1) (ver Tabela 1.3), e deste modo, apresenta elevada mobilidade em corpos d'água. O malation foi detectado em todas as amostras de água doce, mas não na amostra de água do mar. A concentração deste organofosforado nas amostras variou de <LD a 85,7 ng L⁻¹. O malation tem sido aplicado regularmente para combater o mosquito *Aedes Aegypti*, que é um vetor de várias doenças, como dengue, Zika, chikungunya e febre amarela (LEONG *et al.*, 2018; NASCIMENTO; DA ROCHA; DE ANDRADE, 2017). Isso pode explicar a sua elevada frequência de detecção nas amostras analisadas.

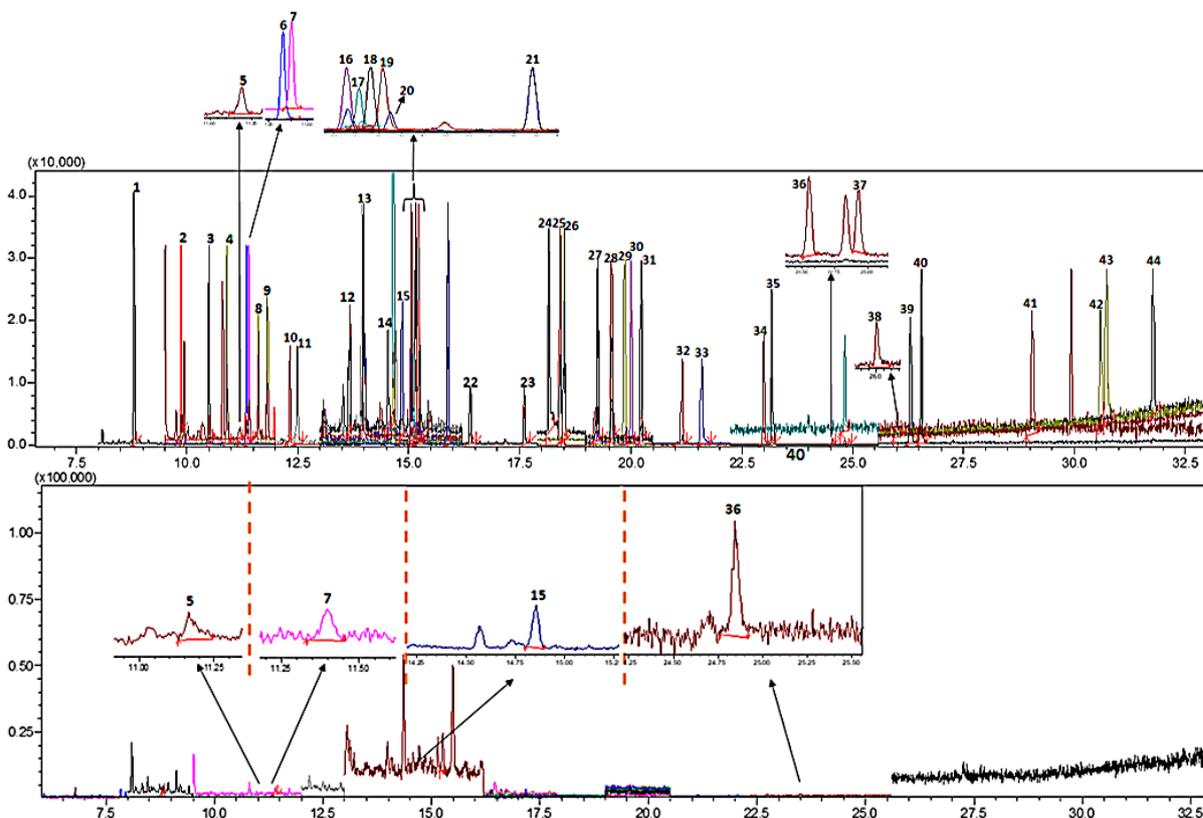
Um cromatograma mostrando alguns dos agrotóxicos detectados em uma amostra de água doce é mostrado na Figura 3.12B, enquanto a Figura 3.12A mostra um cromatograma de uma amostra de água doce contaminada com uma solução mista de agrotóxicos na concentração de 300 ng L⁻¹.

Tabela 3.8 – Concentração (média ± desvio padrão, n=3) dos agrotóxicos nas amostras de água analisadas e recuperações dos padrões surrogates adicionados em cada uma das amostras.

Amostra	Concentração dos agrotóxicos (ng L ⁻¹)					Padrões <i>surrogate</i> Adição de 70 ng L ⁻¹ Percentual recuperado (n=3)				
	Molinato	Dimetoate	Atrazina	Malation	L-cialotrina ^a	TCMX (RR%)	Atrazine-d ₅ (RR%)	Fenthion-d ₃ (RR%)	PCB103 (RR%)	DCB (RR%)
AD01	nd	27,5±4,7*	nd	13,3 ± 2,3**	47,2±3,3*	103 ± 6	98,2 ± 10,5	89,1 ± 2,7	107 ± 3	108 ± 15
AD02	nd	20,0±11,5**	nd	35,6 ± 0,1*	nd	104 ± 7	88,5 ± 10,7	92,2 ± 4,9	115 ± 3	112 ± 1
AD03	nd	120 ± 11	nd	35,8 ± 3,8*	nd	107 ± 2	73,8 ± 2,0	91,1 ± 4,7	113 ± 1	109 ± 3
AD04	nd	60,1±7,9*	nd	72,6 ± 2,0	nd	95,6 ± 6,0	90,5 ± 6,9	78,5 ± 2,4	72,1 ± 12,3	111 ± 3
AD05	nd	nd	nd	63,6 ± 1,5	nd	97,9 ± 4,1	59,0 ± 4,2	58,9 ± 10,1	79,1 ± 3,5	74,5 ± 2,7
AD06	1,11±0,57**	nd	17,4 ± 0,10**	85,7 ± 4,8	nd	83,1 ± 2,0	71,5 ± 0,05	64,2 ± 0,4	94,1 ± 1,5	99,5 ± 2,7
AM01	nd	nd	nd	nd	nd	95,7 ± 0,7	72,2 ± 1,4	69,1 ± 0,8	98,8 ± 2,2	91,9 ± 2,7

AD: Água doce. AM: Água do mar. RR%: recuperação relativa. **<LD. *<LQ.

Figura 3.12 – Cromatograma de uma amostra de água doce obtida a partir da análise por GC-MS em modo SIM. A) Cromatograma de uma amostra de água doce enriquecida com 300 ng L⁻¹ de solução dos agrotóxicos. B) Uma amostra real de água doce.



[1] molinato (8,80 min), [2]TCMX (9,86), [3] sulfotep (10,48 min), [4] alfa-HCH (10,89 min), [5] dimetoate (11,19 min), [6] atrazina-d₅ (11,34 min), [7] atrazina (11,39 min), [8] beta-HCH (11,61 min), [9] gama-HCH (11,80 min), [10] disulfoton (12,32 min), [11] delta-HCH (12,47 min), [12] metil paration (13,65 min), [13] heptacloro (13,93 min), [14] fenitroton (14,53 min), [15] malation (14,83 min), [16] aldrin (15,05 min), [17] fention-(S-metil-d₃) (15,11 min), [18] fention (15,15 min), [19] clorpirifós (15,21 min), [20] paration (15,24 min), [21] PCB103 (15,87 min), [22] heptacloro-epoxido (16,37 min), [23] alfa-endosulfan (17,60 min), [24] imazalil (18,16 min), [25] 4,4-DDE (18,40 min), [26] dieldrin (18,49 min), [27] endrin (19,25 min), [28] beta-endosulfan (19,57 min), [29] 4,4-DDD (19,86 min), [30] etion (20,00 min), [31] endrin-aldeido (20,23 min), [32] 4,4-DDT (21,15 min), [33] tebuconazol (21,59 min), [34] bifentrin (22,99 min), [35] metoxicloro (23,18 min), [36] lambda-cialotrina I (24,55 min), [37] lambda-cialotrina II (24,83 min), [38] piraclostrobina (26,00 min), [39] permetrina I (26,30 min), [40] permetrina II (26,55 min), [41] DCB (29,05 min), [42] difenoconazol I (30,59 min) [43], difenoconazol II (30,71 min), [44] azoxistrobina (31,76 min).

3.4 CONCLUSÃO

Neste trabalho, foi desenvolvido um procedimento de extração D- μ -SPE combinado com um dispositivo de micro-dessorção para extração de 39 agrotóxicos multiclasse em amostras de água doce e água do mar. Todos os analitos foram bem separados dentro de 33 min de corrida usando GC-MS. O planejamento de misturas centroide-simplex permitiu otimizar com eficiência as proporções dos sorventes utilizados na extração dos agrotóxicos. Deste modo, a proporção que forneceu a resposta ótima foi 33,33 % de cada um dos componentes da mistura entre C₁₈, Florisil e Chromosorb G/AW-DCMS.

Técnicas de planejamento de experimentos, como o planejamento fatorial e a matriz de Doehlert foram utilizadas com sucesso na otimização das condições de extração. Sob as condições otimizadas, uma amostra de 100 mL de água foi extraída por 30 min com a adição de 6,74% de NaCl. A dessorção foi realizada em um dispositivo de micro-dessorção usando 500 μ L de AcEt por 24 min sob sonicação.

O procedimento desenvolvido apresentou vantagens interessantes quando comparado a outros procedimentos D- μ -SPE, como baixo consumo de solventes, baixos valores de LQ, e capacidade de processamento de um grande número de amostras por batelada. Em contrapartida, o procedimento apresenta algumas desvantagens, como tempo de extração total relativamente elevado (extração + dessorção) e baixo FC para alguns dos agrotóxicos, como dimetoato e lambda-cialotrina. O método foi aplicado com sucesso na determinação de agrotóxicos em água doce e salgada, e foi capaz de detectar três agrotóxicos comumente aplicados no Brasil: malation, lambda-cialotrina e dimetoato.

3.5 REFERÊNCIA

AMIRI, A. et al. Synthesis of a zinc-based metal-organic framework with histamine as an organic linker for the dispersive solid-phase extraction of organophosphorus pesticides in water and fruit juice samples. **Journal of Chromatography A**, v. 1597, p. 39–45, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2019.03.039>>.

AMIRI, A.; BAGHAYERI, M.; VAHDATI-NASAB, N. Effective extraction of organophosphorus pesticides using sol–gel based coated stainless steel mesh as novel solid-phase extraction sorbent. **Journal of Chromatography A**, v. 1620, p. 461020, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2020.461020>>.

ANVISA. Monografias autorizadas. Disponível em: <<https://www.gov.br/anvisa/pt-br>>. Acesso em: 25 nov. 2020.

ARIAS, P. G. et al. Selective solid-phase extraction of organophosphorus pesticides and their oxon-derivatives from water samples using molecularly imprinted polymer followed by high-performance liquid chromatography with UV detection. **Journal of Chromatography A**, 2020.

BERISTAIN-MONTIEL, E. et al. An innovative ultrasound assisted extraction micro-scale cell combined with gas chromatography/mass spectrometry in negative chemical ionization to determine persistent organic pollutants in air particulate matter. **Journal of Chromatography A**, v. 1477, p. 100–107, 2016.

BUSZEWSKI, B.; SZULTKA, M. Past, Present, and Future of Solid Phase Extraction: A Review. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, v. 42, n. 3, p. 198–213, 2012.

CALADO, V.; MONTGOMERY, D. C. **Planejamento de experimentos usando o Statistica**. Rio de Janeiro: e-papers Serviços Editoriais, 2003.

CANDIOTI, L. V. et al. Experimental design and multiple response optimization. Using the desirability function in analytical methods development. **Talanta**, v. 124, p. 123–138, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2014.01.034>>.

CHAHKANDI, M.; AMIRI, A.; ARAMI, S. R. S. Extraction and preconcentration of organophosphorus pesticides from water samples and fruit juices utilizing hydroxyapatite/Fe₃O₄ nanocomposite. **Microchemical Journal**, v. 144, n. May 2018, p. 261–269, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.microc.2018.09.018>>.

CHAU, H. T. C. et al. Development of a comprehensive screening method for more than 300 organic chemicals in water samples using a combination of solid-phase extraction and liquid chromatography-time-of-flight-mass spectrometry. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 24, n. 34, p. 26396–26409, 2017.

CHISVERT, A.; CÁRDENAS, S.; LUCENA, R. Dispersive micro-solid phase extraction. **TrAC-Trends Analytical Chemistry**, v. 112, p. 226–233, 2019.

DELLA-FLORA, A. et al. Comprehensive investigation of pesticides in Brazilian surface water by high resolution mass spectrometry screening and gas chromatography – mass spectrometry quantitative analysis. **Science of the Total Environment**, v. 669, p. 248–257, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.02.354>>.

EPA. Method 1699 2007 pesticides in Water, Soil, Sediment, Biosolids, and Tissue by HRGC-HRMS. Disponível em: <https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-10/documents/method_1699_2007.pdf>. Acesso em: 11 dez. 2019.

FARAJZADEH, M. A.; YADEGHARI, A.; KHOSHAMARAM, L. Magnetic solid phase extraction using Fe₃O₄@SiO₂@C₈ nanoparticles performed in a narrow-bore tube followed by dispersive liquid–liquid microextraction for extraction and preconcentration of nine pesticides. **New Journal of Chemistry**, v. 42, p. 6215–6224, 2018. Disponível em: <<http://xlink.rsc.org/?DOI=C8NJ00501J>>.

FARAJZADEH, MIR ALI; YADEGHARI, A.; KHOSHAMARAM, L. Combination of dispersive solid phase extraction and dispersive liquid-liquid microextraction for extraction of some aryloxy pesticides prior to their determination by gas chromatography. **Microchemical Journal**, v. 131, p. 182–191, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.microc.2016.12.013>>.

FERREIRA. **Introdução às técnicas de planejamento de experimentos**. 1 ed. Salvador: Vento Leste, 2015.

FERREIRA, S. Doehlert matrix: a chemometric tool for analytical chemistry -review. **Talanta**, v. 63, n. 4, p. 1061–1067, 2004. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0039914004000384>>.

GAŁUSZKA, A.; MIGASZEWSKI, Z.; NAMIEŚNIK, J. The 12 principles of green analytical chemistry and the SIGNIFICANCE mnemonic of green analytical practices. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 50, p. 78–84, 2013.

GARCÍA-VALVERDE, M. T. et al. In-syringe dispersive micro-solid phase extraction using carbon fibres for the determination of chlorophenols in human urine by gas chromatography/mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1464, p. 42–49, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2016.08.036>>.

GHORBANI, M. et al. Trends in sorbent development for dispersive micro-solid phase extraction. **Microchemical Journal**, v. 158, n. July, p. 105250, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.microc.2020.105250>>.

GORJI, S. et al. Stir bar sorptive extraction kit for determination of pesticides in water samples with chemometric data processing. **Microchemical Journal**, v. 148, p. 313–321, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.microc.2019.04.056>>.

HUANG, Z.; KEE, H. Micro-solid-phase extraction of organochlorine pesticides using porous metal-organic framework MIL-101 as sorbent. **Journal of Chromatography A**, v. 1401, p. 9–16, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2015.04.052>>.

JIANG, X.; SZE, Y. O.; HIAN, K. L. Dynamic liquid-liquid-liquid microextraction with automated movement of the acceptor phase. **Analytical Chemistry**, v. 77, n. 6, p. 1689–1695, 2005.

KHEZELI, T.; DANESHFAR, A. Development of dispersive micro-solid phase extraction based on micro and nano sorbents. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 89, p. 99–118, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.trac.2017.01.004>>.

LEONG, C. S. et al. *Aedes aegypti*(Linnaeus) larvae from dengue outbreak areas in Selangor showing resistance to pyrethroids but susceptible to organophosphates. **Acta Tropica**, v. 185, n. May, p. 115–126, 2018.

LIU, A. et al. Quantification of Trace Organophosphorus Pesticides in Environmental Water via Enrichment by Magnetic-Zirconia Nanocomposites and Online Extractive Electrospray Ionization Mass Spectrometry. **Analytical Chemistry**, v. 92, n. 5, p. 4137–4145, 2020.

LÓPEZ, A.; COSCOLLÀ, C.; YUSÀ, V. Evaluation of sampling adsorbents and validation of a LC-HRMS method for determination of 28 airborne pesticides. **Talanta**, v. 189, n. February, p. 211–219, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2018.06.078>>.

MAO, X. et al. Dispersive solid-phase extraction using microporous sorbent UiO-66 coupled to gas chromatography-tandem mass spectrometry: A QuEChERS-Type method for the determination of organophosphorus pesticide residues in edible vegetable oils without matrix interfer. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 67, n. 6, p. 1760–1770, 2019.

MAŠTOVSKÁ, K.; LEHOTAY, S. J. Evaluation of common organic solvents for gas chromatographic analysis and stability of multiclass pesticide residues. **Journal of Chromatography A**, v. 1040, n. 2, p. 259–272, 2004.

MENEZES, A. et al. Development , validation and application of a method based on DI-SPME and GC – MS for determination of pesticides of different chemical groups in surface and groundwater samples. **Microchemical Journal**, v. 96, n. 1, p. 139–145, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.microc.2010.02.018>>.

MITRA, S. **Sample Preparation Techniques in Analytical Chemistry**. New Jersey: Wiley-Interscience, 2003.

MONTIEL-LEÓN, J. M. et al. Widespread occurrence and spatial distribution of glyphosate, atrazine, and neonicotinoids pesticides in the St. Lawrence and tributary rivers. **Environmental Pollution**, v. 250, p. 29–39, 2019.

NASCIMENTO, M. N.; DA ROCHA, G. O.; DE ANDRADE, J. B. Simple and effective dispersive micro-solid phase extraction procedure for simultaneous determination of polycyclic aromatic compounds in fresh and marine waters. **Talanta**, v. 204, p. 776–791, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.06.061>>.

NASCIMENTO, M.M.; DA ROCHA, G. O.; DE ANDRADE, J. B. Pesticides in the atmospheric environment: An overview on their determination methodologies. **Analytical Methods**, v. 10, n. 37, p. 4484–4504, 2018.

NASCIMENTO, MADSON M.; DA ROCHA, G. O.; DE ANDRADE, J. B. Pesticides in fine airborne particles: from a green analysis method to atmospheric characterization and risk assessment. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 2267, 2017. Disponível em: <<http://www.nature.com/articles/s41598-017-02518-1>>.

NOJAVAN, S.; YAZDANPANA, M. Micro-solid phase extraction of benzene, toluene, ethylbenzene and xylenes from aqueous solutions using water-insoluble β -cyclodextrin polymer as sorbent. **Journal of Chromatography A**, v. 1525, p. 51–59, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2017.10.027>>.

PICHON, V. Solid-phase extraction for multiresidue analysis of organic contaminants in water. **Journal of Chromatography A**, v. 885, n. 1–2, p. 195–215, 2000.

POOLE, C. F. New trends in solid-phase extraction. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 22, n. 6, p. 362–373, jun. 2003. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0165993603006058>>.

RASHIDI NODEH, H. et al. Magnetic graphene coated inorganic-organic hybrid nanocomposite for enhanced preconcentration of selected pesticides in tomato and grape. **Journal of Chromatography A**, v. 1509, p. 26–34, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2017.06.032>>.

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

RIBANI, M.; COLLINS, C. H.; BOTTOLI, C. B. G. Validation of chromatographic methods: Evaluation of detection and quantification limits in the determination of impurities in omeprazole. **Journal of Chromatography A**, v. 1156, p. 201–205, 2007.

SAMCO. Guidance document on analytical quality control and validation procedures for pesticide residues analysis in food and feed. Disponível em: <http://www.eurl-pesticides.eu/library/docs/allcrl/AqcGuidance_Sanco_2013_12571.pdf>. Acesso em: 11 jul. 2018.

SANTOS, W. P. C. et al. Application of multivariate optimization in the development of an ultrasound-assisted extraction procedure for multielemental determination in bean seeds samples using ICP OES. **Microchemical Journal**, v. 91, n. 2, p. 153–158, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.microc.2008.10.001>>.

SENOZY, I. A. et al. Magnetic solid-phase extraction based on nano-zeolite imidazolate framework-8-functionalized magnetic graphene oxide for the quantification of residual fungicides in water, honey and fruit juices. **Food Chemistry**, v. 325, n. October 2019, p. 126944, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126944>>.

SHAKOURIAN, M.; YAMINI, Y.; SAFARI, M. Facile magnetization of metal–organic framework TMU-6 for magnetic solid-phase extraction of organophosphorus pesticides in water and rice samples. **Talanta**, v. 218, n. January, p. 121139, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2020.121139>>.

THOMPSON, M.; ELLISON, S. L. R.; WOOD, R. Quality Assurance Schemes For Analytical Laboratories. Harmonized Guidelines For Single- Laboratory Validation of Methods of Analysis (IUPAC Technical Report) Harmonized guidelines for single-laboratory -laboratory (IUPAC Technical Report). **Pure and Applied Chemistry**, v. 74, n. 5, p. 835–855, 2002.

TOMAŠEVIĆ, T. et al. Study on the photocatalytic degradation of insecticide methomyl in water. **Desanilation**, v. 262, p. 228–234, 2010.

TÜMAY ÖZER, E.; OSMAN, B.; PARLAK, B. An experimental design approach for the solid phase extraction of some organophosphorus pesticides from water samples with polymeric microbeads. **Microchemical Journal**, v. 154, n. September 2019, p. 104537, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.microc.2019.104537>>.

TURIEL, E.; DÍAZ-ÁLVAREZ, M.; MARTÍN-ESTEBAN, A. Surface modified-magnetic nanoparticles by molecular imprinting for the dispersive solid-phase extraction of triazines from environmental waters. **Journal of separation science**, v. 43, n. 16, p. 3304–3314, 2020.

WANG, D. D. et al. Magnetic polydopamine modified with deep eutectic solvent for the magnetic solid-phase extraction of sulfonylurea herbicides in water samples. **Journal of Chromatography A**, v. 1601, p. 53–59, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2019.05.011>>.

XU, W.; WANG, X.; CAI, Z. Analytical chemistry of the persistent organic pollutants identified in the Stockholm Convention: A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 790, p. 1–13, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.aca.2013.04.026>>.

YUWONO, M.; INDRAYANTO, G. Validation of Chromatographic Methods of Analysis. Profiles of Drug Substances, **Excipients and Related Methodology**, v. 32, n. 05, p. 241–260, 2005.

ZHANG, M. et al. Magnetic adsorbent based on mesoporous silica nanoparticles for magnetic solid phase extraction of pyrethroid pesticides in water samples. **Journal of Chromatography A**, v. 1598, p. 20–29, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2019.03.048>>.

**CAPÍTULO IV – DESENVOLVIMENTO DE UM DISPOSITIVO DE TRÊS VIAS
PARA FILTRAÇÃO E MICROEXTRAÇÃO SÓLIDO-LÍQUIDO**

4.1 INTRODUÇÃO

Atualmente, muitos procedimentos recentes envolvendo D- μ SPE tem sido desenvolvidos visando a extração de poluentes orgânicos, como CPAs e agrotóxicos em amostras de água. No entanto, o desenvolvimento de dispositivos simples e específicos para esta finalidade tem sido pouco explorado. Os trabalhos conduzidos por Farajzadeh, Yadeghari e Khoshmaram (2017;2018) e por Nascimento, da Rocha e De Andrade (2019;2021), apresentaram algumas alternativas de dispositivos simples e construídos especificamente para emprego em procedimentos de D- μ SPE. No entanto, estes dispositivos têm limitações que geram algumas desvantagens. O procedimento de extração em tubo estreito desenvolvido nos trabalhos publicados por Farajzadeh, Yadeghari e Khoshmaram (2017;2018) empregam um tubo estreito que permite que a dispersão do sorvente ocorra por meio da ação da gravidade. Entretanto, este processo reduz consideravelmente a velocidade analítica do procedimento, além de possuir múltiplas etapas e um consumo significativo de solventes orgânicos. Embora os procedimentos desenvolvidos por Nascimento, Da Rocha e De Andrade (2017; 2018) tenham demonstrado vantagens em relação a capacidade de preparo de várias amostras simultaneamente e o consumo mínimo de solventes orgânicos e reagentes durante a dessorção, desvantagens como múltiplas etapas e limitações em reduzir o volume do solvente de dessorção ainda são observadas.

Dentro deste contexto, surge a necessidade em desenvolver novos dispositivos que possibilitem o uso de menores quantidades de sorventes e solventes orgânicos, além de reduzir as etapas do preparo de amostras. Uma alternativa viável para obtenção de dispositivos mais complexos e especialmente projetados por meio do uso de impressão 3D. Uma vasta quantidade de dispositivos impressos em 3D tem sido desenvolvida, principalmente em aplicações envolvendo microfluídica (BEAUCHAMP et al., 2019; BICKHAM et al., 2020; GROSS; LOCKWOOD; SPENCE, 2017), sensores (BISHOP et al., 2016) e extração em fase sólida (SU; LIN, 2020). A principal vantagem de se construir dispositivos via impressão 3D é a precisão milimétrica em que cada peça pode ser impressa, permitindo os mais variados desenhos. Um exemplo disso pode ser visto no trabalho desenvolvido por Šrámková et al. (2020), que

desenvolveram um dispositivo em formato de “gaiola” para extração em fase semidispersiva de bisfenóis em água de rio. O dispositivo foi utilizado combinado com micro e nanofibra de policaprolactona (nPCL/ μ PCL), a qual foi inserida no centro do dispositivo. Após validação, o procedimento apresentou valores de LD que variaram de 8,5 $\mu\text{g L}^{-1}$ a 20,2 $\mu\text{g L}^{-1}$.

4.1.1 OBJETIVOS

4.1.1.1 Objetivo geral

Diante do exposto, o presente estudo teve como objetivo desenvolver um Dispositivo de Três Vias Para Filtração e Microextração Sólido-Líquido para a extração de poluentes orgânicos em amostras de água.

4.1.1.1.1 Objetivos específicos

- ✓ Projetar e desenvolver um Dispositivo de Três Vias Para Filtração e Microextração Sólido-Líquido por meio de impressão 3D;
- ✓ Avaliar preliminarmente a adequação do Dispositivo de Três Vias Para Filtração e Microextração Sólido-Líquido na extração de HPAs prioritários em água;

4.2 MATERIAIS E MÉTODOS

4.2.1 Reagentes e soluções

Neste estudo, foi utilizada uma solução padrão certificada mista dos 16 HPAs prioritários, na concentração $2000 \mu\text{g mL}^{-1}$, adquirida da Supelco (St. Louis, EUA), conforme descrito na seção 2.2.1 do Capítulo II. Também foram utilizados solventes de grau cromatográfico/espectroscópico, tais como 2-propanol (99,7%) e *n*-hexano (98 %) Merck (Darmstadt, Alemanha). O C₁₈ Sigma-Aldrich (St. Louis, EUA) (tamanho de partícula: 55–105 μm) foi utilizado como sorvente. A água ultrapura foi obtida de um sistema MilliQ MilliPore Merck (Darmstadt, Alemanha) com resistividade de 18,2 M Ω cm (25°C) e teor de carbono orgânico < 3 ppb.

4.2.2 Instrumentação

Os HPAs foram determinados utilizando-se um GC-MS QP2010-Ultra (Shimadzu, Japão) equipado com um amostrador automático Shimadzu AOC20i + s e coluna capilar SGE BP5MS (30 m \times 0,25 mm \times 0,25 μm , composta por 5% fenil e 95% dimetilpolissiloxano). O hélio ultra puro (99,999%, White Martins, Brasil) foi utilizado como gás de arraste. As condições cromatográficas utilizadas foram as mesmas descritas na seção 2.2.2 do Capítulo II.

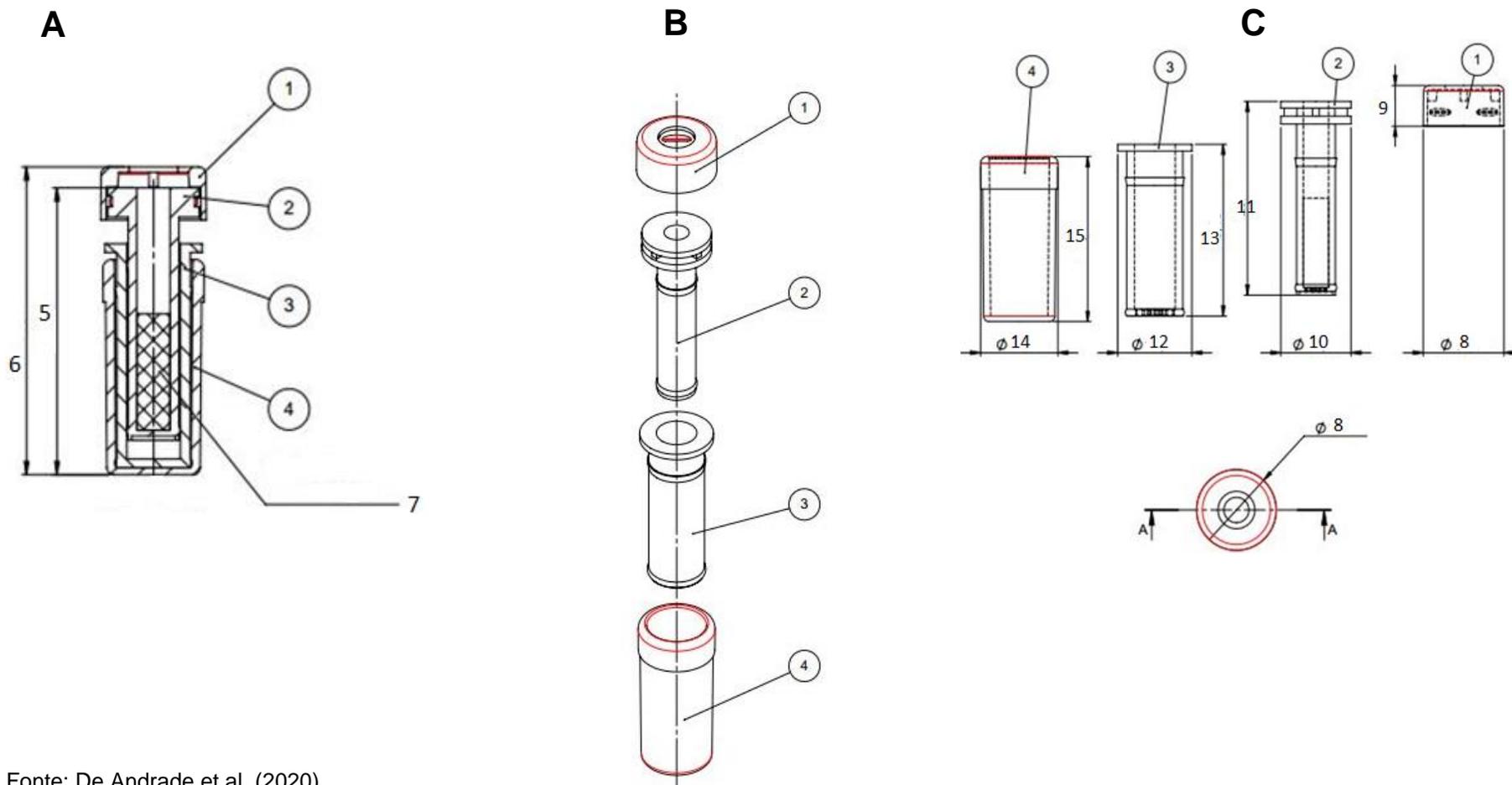
4.2.3 Concepção Dispositivo de Três Vias Para Filtração e Microextração Sólido-Líquido

O Dispositivo de Três Vias Para Filtração e Microextração Sólido-Líquido foi desenvolvido para superar algumas das desvantagens da D- μ SPE convencional e permitir um processo de extração mais efetivo, com redução e simplificação das etapas de extração/dessorção e gasto mínimo de solventes. Este dispositivo pode contribuir de forma significativa para redução na geração de resíduos e também do tempo de análise. Vale a pena ressaltar que grande parte dos procedimentos analíticos empregados D- μ SPE são realizados muitas vezes com múltiplas etapas,

envolvendo: (i) extração/preconcentração, (ii) filtração, (iii) lavagem do adsorvente, (iv) dessorção, (v) filtração do extrato, (vi) transferência para um *vial* de cromatografia convencional e (vii) injeção no sistema cromatográfico. Em cada uma dessas etapas aumenta-se a possibilidade de contaminação, além da possibilidade de perda do sorvente e introdução de erros sistemáticos. Com a possibilidade de acoplamento do Dispositivo de Três Vias Para Filtração e Microextração Sólido-Líquido a um dispositivo de extração para emprego na D- μ SPE (Capítulo II), todas essas etapas podem ser simplificadas no máximo em uma ou duas, garantindo a minimização de erros, elevada velocidade analítica e uma elevada capacidade de pré-concentração dos analitos, uma vez que um volume mínimo de solvente é utilizado. Isso é particularmente importante na determinação de poluentes orgânicos e outros contaminantes em nível de traços, tais como: HPAs e seus derivados, resíduos de agrotóxicos, interferentes endócrinos, contaminantes emergentes e resíduos de medicamentos, dentre outros, em amostras de água e outras matrizes ambientais e alimentícias (DE ANDRADE et al., 2020).

O dispositivo foi desenhado visando a simplicidade e a miniaturização (Figura 4.1). Além disso, ele apresentou dimensões compatíveis com a maioria dos autoamostradores disponíveis nos sistemas de cromatografia. Os componentes básicos do dispositivo são: uma tampa (1), uma câmara filtrante interna (2), que deve ser inserida em uma câmara filtrante externa (3), que por sua vez deve ser inserida na câmara de suporte (4) (Figura 4.1B). Dessa forma, o dispositivo completamente montado deve ter uma altura de 32,90 a 36,90 mm (6), além de uma altura (5) de 30,55 a 34,55 mm sem a tampa (1), diâmetro (14) preferencial de 9,58 a 13,58 mm em sua câmara de suporte (4) e volume interno (7) preferencial de 100 a 250 μ L (DE ANDRADE et al., 2020).

Figura 4.1 – Desenho técnico do Dispositivo de Três Vias Para Filtração e Microextração Sólido-Líquido. A) Dispositivo com todas as partes encaixadas (vista lateral). B) Dispositivo com as partes separadas (vista superior). C) Dispositivo com as partes separadas (vista lateral).



Fonte: De Andrade et al. (2020)

Na parte superior do dispositivo, a tampa (1) (Figura 4.1B e Figura 4.1C) deve apresentar um diâmetro (8) preferencial de 10,10 mm a 14,10 mm e uma altura (9) preferencial de 4,01 a 8,01 mm. A tampa (1) deve ser preferencialmente de polipropileno, ou de outro material compatível ou similar que exerça a mesma função, ou outros materiais poliméricos termicamente resistentes e inertes ao ataque de solventes ou vapores de solventes orgânicos ou demais reagentes, permitindo, quando conveniente, a adequada limpeza e descontaminação para aplicações posteriores (DE ANDRADE et al., 2020).

Na parte inferior do dispositivo, a câmara de suporte (4) deve possuir altura (15) preferencial de 22,40 a 26,40 mm, bem como, diâmetro (14) preferencial de 9,58 a 13,58 mm, podendo a dita câmara de suporte (4) ser manufaturada com materiais poliméricos, cerâmicos ou de vidro borossilicato. A função da câmara de suporte é abrigar em seu interior os componentes (2) e (3) para as etapas de dessorção e filtração da solução, respectivamente (DE ANDRADE et al., 2020).

A câmara filtrante externa (3) deve possuir altura (13) preferencial de 23,50 a 27,40 mm e diâmetro (12) preferencial de 9,10 a 13,10 mm. Em sua parte inferior, a dita câmara filtrante externa (3) deve apresentar um filtro, preferencialmente composto por fluoreto de polivinilideno (PVDF), ou politetrafluoretileno (PTFE), ou celulose, ou qualquer outro material filtrante ou misturas destes, com diâmetro de poro de 50 a 60 μm para permitir uma rápida e eficiente filtração. A câmara filtrante externa (3) deve ser acoplada a um dispositivo ou vidraria para D- μSPE , onde atuará como um filtro, retendo o sorvente durante a filtração da amostra. Dessa forma, após reter o sorvente, a câmara filtrante externa (3) deve ser encaixada na câmara de suporte (4). Em seguida, uma determinada quantidade de solvente (100 – 250 μL) deve ser adicionada a câmara filtrante externa (3). Para vedação parcial do sistema, a câmara filtrante interna (2) deve ser encaixada nos primeiros 10 mm da câmara filtrante externa (3) (DE ANDRADE et al., 2020).

A câmara filtrante interna (2) é uma parte móvel e tem a função de realizar a etapa de filtração. A câmara filtrante interna (2) deve possuir diâmetro (10) interno preferencial de 8,50 a 12,50 mm e altura (11) preferencial de 26,65 a 30,65 mm, podendo ser manufaturada em vidro borossilicato, teflon ou cerâmica, dentre outros materiais similares, ou misturas destes. A câmara filtrante interna (2) deve ser

projetada para acomodar entre 100 μL a 250 μL de volume de solvente. Em sua parte inferior, deve possuir uma membrana filtrante de fluoreto de polivinilideno (PVDF), ou politetrafluoretileno (PTFE), ou celulose, ou qualquer outro material filtrante ou misturas destes, com diâmetro de poro de 0,20 ou 0,45 μm (DE ANDRADE et al., 2020).

4.2.4 Testes preliminares com o protótipo do dispositivo impresso em PEEK.

O primeiro protótipo do dispositivo foi impresso utilizando o polímero termoplástico poli(éter-éter-cetona) ou PEEK. Antes do uso, o protótipo do dispositivo impresso foi lavado em solução Extran neutro 4 %, $v v^{-1}$ e enxaguado com água ultrapura e, em seguida, enxaguado três vezes com metanol. Aproximadamente 20 mg de lã de vidro foi pesada e compactada no interior da câmara filtrante externa (3) do dispositivo. Com o objetivo de se realizar um teste preliminar para verificar a adequabilidade do protótipo, uma extração D- μSPE foi realizada empregando-se as condições descritas na Seção 2.2.8 do Capítulo II, com algumas modificações. Inicialmente, foi utilizada uma massa de 70 mg de C_{18} devido às restrições associadas às dimensões do dispositivo. Uma amostra de água ultrapura foi contaminada com uma alíquota da solução de trabalho dos HPAs para gerar uma solução aquosa de concentração final de 100 ng L^{-1} , a qual foi utilizada no procedimento de extração.

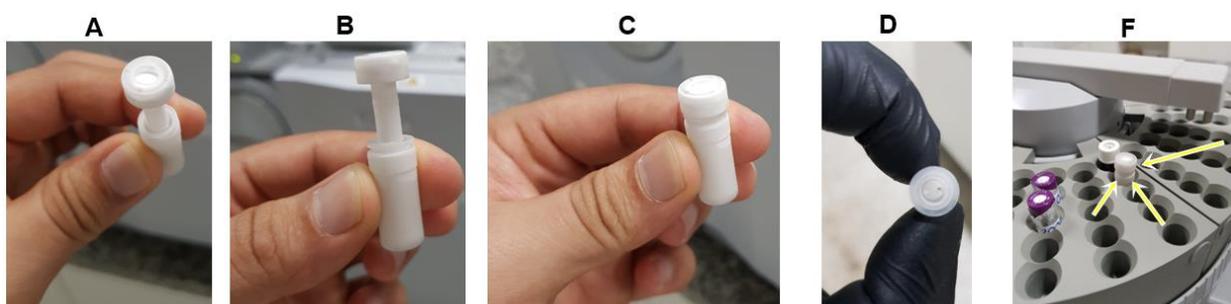
Após o procedimento de extração em vortex, a câmara filtrante externa (3) protótipo do dispositivo impresso foi acoplado ao final do dispositivo de extração D- μSPE de vidro, substituindo a ponteira de 5 mL com lã de vidro. Depois da filtração à vácuo, a câmara filtrante externa (3) foi introduzida na câmara de suporte (4) (Figura 4.1 B). Em seguida, um volume de 150 μL de *n*-hexano foi adicionado à câmara filtrante externa (3). Posteriormente, a câmara filtrante interna (2) foi encaixada lentamente na câmara filtrante externa (3), e pressionada de modo a vedar os primeiros 10,00 mm da câmara filtrante externa (3) (Figura 4.1B). O sistema foi submetido à sonicação em banho de ultrassom (20 min) para completar o processo de dessorção dos analitos. Após a etapa de dessorção, a câmara filtrante interna (2) foi pressionada até o final da câmara filtrante externa (3) efetuando-se a filtração através de uma seção de um filtro de fibra de quartzo fixado no fundo da câmara

filtrante interna (2). Em seguida, o dito dispositivo fechado (Figura 4.1A) foi colocado no autoamostrador do GC-MS para a injeção imediata.

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

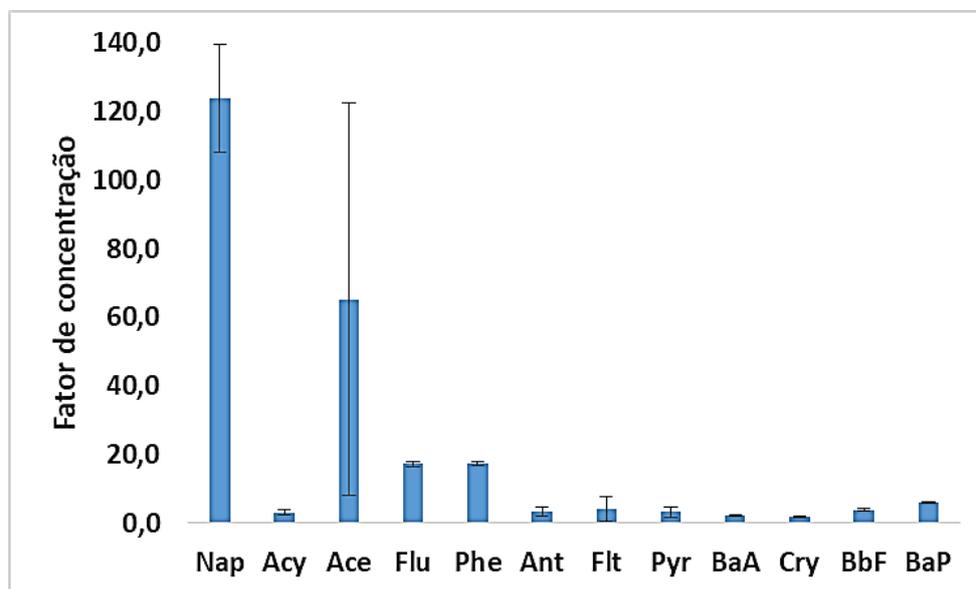
A Figura 4.2 mostra o Dispositivo de Três Vias Para Filtração e Microextração Sólido-Líquido após prototipagem e testes preliminares.

Figura 4.2 – Primeiro protótipo do Dispositivo de Três Vias Para Filtração e Microextração Sólido-Líquido impresso em 3D com polímero PEEK. A) visualização da parte superior do protótipo com a câmara de filtração interna semifechada. B) vista lateral. C) vista lateral do protótipo fechado (filtração). D) perfeita adequação do dispositivo no autoamostrador do GC-MS, com dimensões similares a um vial de cromatografia. F) perfeita adequação do dispositivo no autoamostrador do GC-MS, com dimensões similares a um vial de cromatografia.



Os testes preliminares mostraram que o primeiro protótipo do dispositivo atendeu satisfatoriamente aos critérios de encaixe das peças e dimensões compatíveis com o sistema de introdução de amostras do GC-MS, conforme o desenho técnico da Figura 4.1. Para avaliar a eficiência do dispositivo durante a extração via D- μ SPE, foi calculado o FC para cada um dos HPAs prioritários avaliados no teste. A Figura 4.3 mostra os resultados obtidos para cada composto.

Figura 4.3 – Fator de pré-concentração calculado para os HPAs prioritários extraídos da amostra teste utilizando o protótipo do Dispositivo de Três Vias Para Filtração e Microextração Sólido-Líquido.



De acordo com os resultados, observou-se que foram obtidos baixos valores de FC para todos os HPAs investigados, principalmente para os HPAs de elevada massa molar. HPAs como o indeno, DbA, BgP e Cor não foram detectados após a extração. Os HPAs de baixa molecular, tais como Nap, Ace, Flu e Phe, apresentaram valores de FC mais elevados do que os HPAs de massa mais elevada. No entanto, esses valores ainda foram bem inferiores aos obtidos utilizando o dispositivo de micro-extração utilizado na extração destes mesmos HPAs no Capítulo II. Além disso, os desvios foram bastante elevados, mostrando que a variação nas medidas foi severamente comprometida.

Estes problemas observados no teste preliminar do protótipo do primeiro dispositivo podem ser atribuídos a diferentes fatores. O fato de ainda ser o primeiro protótipo evidencia alguns problemas em componentes que podem ser melhorados posteriormente em uma segunda versão do protótipo. A primeira é a dificuldade em se ajustar uma membrana filtrante adequada à câmara de filtração externa e interna. Uma membrana de filtração ou uma camada de lã de vidro mal ajustada pode resultar em perdas consideráveis do sorvente, o que leva a uma diminuição da eficiência. Esse fator pode justificar os baixos valores de FC para a maioria dos HPAs e também os elevados valores de desvios-padrão, principalmente para os HPAs mais leves, como

Nap e Ace. Um segundo fator a se considerar é a utilização de sorventes mais eficientes do que o C₁₈. Uma vez que as dimensões deste dispositivo permitem o uso de uma massa reduzida de sorvente, o emprego de um sorvente com capacidade de retenção e área superficial maior pode ser uma alternativa viável.

Uma versão melhorada do dispositivo, ou seja, um segundo protótipo foi desenvolvida, mas com as normas de contenção para o controle da pandemia da COVID-19 não houve tempo hábil para realizar os testes necessários e reportar os resultados nesta Tese. Vale a pena ressaltar, no entanto, que uma patente do dispositivo foi depositada e concedida e novos testes estarão previsto no retorno das atividades de pesquisa.

4.4 CONCLUSÃO

Um dispositivo impresso via impressora 3D foi desenvolvido com sucesso para uso em procedimentos envolvendo a D- μ SPE. O dispositivo foi impresso utilizando polímero termoplástico PEEK e foi constituído por três partes: câmara de suporte, câmara de filtração externa e câmara de filtração interna. Os testes preliminares com um protótipo mostraram que o dispositivo apresentou dimensões que foram compatíveis com os sistemas de cromatografia atualmente utilizado na maioria dos laboratórios. Além disso, foi possível conduzir todas as etapas do procedimento desenvolvido utilizando o protótipo do dispositivo de três vias acoplado ao dispositivo de extração D- μ SPE desenvolvido no Capítulo II. Contudo, os resultados dos testes preliminares mostraram que melhorias e correções ainda precisam ser feitas no dispositivo, uma vez que os FC utilizando o primeiro protótipo foram baixos.

4.5 REFERÊNCIAS

- BEAUCHAMP, M. J. et al. 3D Printed Microfluidic Devices for Microchip Electrophoresis of Preterm Birth Biomarkers. **Analytical Chemistry**, v. 91, n. 11, p. 7418–7425, 2019.
- BICKHAM, A. V. et al. 3D Printed Microfluidic Devices for Solid-Phase Extraction and On-Chip Fluorescent Labeling of Preterm Birth Risk Biomarkers. **Analytical Chemistry**, v. 92, n. 18, p. 12322–12329, 2020.
- BISHOP, G. W. et al. Electrochemiluminescence at Bare and DNA-Coated Graphite Electrodes in 3D-Printed Fluidic Devices. **ACS Sensors**, v. 1, n. 2, p. 197–202, 2016.
- DE ANDRADE, J. B. et al. **Dispositivo de Três Vias Para Filtração e Microextração Sólido-Líquido**. Depositante: SENAI-CIMATEC. Procurador: . BR nº BR 102019011244-1. Depósito: 31 de Maio de 2019. Concessão: 27 de Outubro de 2020.
- FARAJZADEH, M. A.; YADEGHARI, A.; KHOSH MARAM, L. Magnetic solid phase extraction using Fe₃O₄@SiO₂@C₈ nanoparticles performed in a narrow-bore tube followed by dispersive liquid-liquid microextraction for extraction and preconcentration of nine pesticides. **New Journal of Chemistry**, v. 42, p. 6215–6224, 2018. Disponível em: <<http://xlink.rsc.org/?DOI=C8NJ00501J>>.
- FARAJZADEH, MIR ALI; YADEGHARI, A.; KHOSH MARAM, L. Combination of dispersive solid phase extraction and dispersive liquid-liquid microextraction for extraction of some aryloxy pesticides prior to their determination by gas chromatography. **Microchemical Journal**, v. 131, p. 182–191, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.microc.2016.12.013>>.
- GROSS, B.; LOCKWOOD, S. Y.; SPENCE, D. M. Recent advances in analytical chemistry by 3D printing. **Analytical Chemistry**, v. 89, n. 1, p. 57–70, 2017.
- NASCIMENTO, M.M.; DA ROCHA, G. O.; DE ANDRADE, J. B. Customized dispersive micro-solid-phase extraction device combined with micro-desorption for the simultaneous determination of 39 multiclass pesticides in environmental water samples. *Journal of Chromatography A*, v. 1639, 2021.
- NASCIMENTO, MADSON MOREIRA; DA ROCHA, G. O.; DE ANDRADE, J. B. A rapid low-consuming solvent extraction procedure for simultaneous determination of 34 multiclass pesticides associated to respirable atmospheric particulate matter (PM_{2.5}) by GC–MS. **Microchemical Journal**, v. 139, p. 424–436, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.microc.2018.03.023>>.
- ŠRÁMKOVÁ, I. H. et al. 3D-Printed Magnetic Stirring Cages for Semidispersive Extraction of Bisphenols from Water Using Polymer Micro- And Nanofibers. **Analytical Chemistry**, v. 92, n. 5, p. 3964–3971, 2020.

SU, C. K.; LIN, J. Y. 3D-Printed Column with Porous Monolithic Packing for Online Solid-Phase Extraction of Multiple Trace Metals in Environmental Water Samples. **Analytical Chemistry**, v. 92, n. 14, p. 9640–9648, 2020.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os procedimentos baseados na extração em fase micro-sólida dispersiva mostraram-se uma alternativa simples e viável para extração de poluentes orgânicos persistentes como compostos policíclicos aromáticos e agrotóxicos de amostras de água. O desenvolvimento de dispositivos customizados para realizar a extração e a etapa de micro-dessorção permitiu extrair eficientemente a maioria dos analitos com gasto mínimo de solventes orgânicos, não excedendo 500 μL . Além disso, houve um ganho de eficiência em relação a capacidade de processamento de amostras por batelada. Deste modo, os procedimentos desenvolvidos se mostraram aptos para a determinação de poluentes orgânicos como compostos policíclicos aromáticos e resíduos de agrotóxicos em baixas concentrações em um grande número de amostras de água.

Por fim, o desenvolvimento de um dispositivo de três vias para emprego na extração em fase micro-sólida dispersiva foi uma etapa importante para melhorar o a eficiência dos procedimentos desenvolvidos, principalmente no que se refere a redução das múltiplas etapas.

SUGESTÃO DE TRABALHOS FUTUROS

1. Otimizar o procedimento para a determinação de agrotóxicos analisáveis por cromatografia a líquido de alta eficiência (HPLC).
2. Estender a aplicação do procedimento analítico para outros poluentes orgânicos, como interferentes endócrinos, fármacos, drogas de abuso, dentre outros.
3. Adaptar o procedimento analítico para análise de outras amostras líquidas, como vinhos e outras bebidas não alcoólicas.
4. Analisar um maior número de amostras para a determinação de agrotóxicos.
5. Realizar novos testes com o dispositivo de três vias de modo a melhorar sua eficiência.
6. Construir novas versões do dispositivo de três vias, incluindo versões de vidro.

PRODUÇÃO CIENTÍFICA DURANTE O PERÍODO DO DOUTORADO

Artigos publicados em periódicos

NASCIMENTO, M. M.; DA ROCHA, G. O.; DE ANDRADE, J. B. A rapid low-consuming solvent extraction procedure for simultaneous determination of 34 multiclass pesticides associated to respirable atmospheric particulate matter (PM_{2.5}) by GC–MS. **Microchemical Journal**, v. 139, p. 424–436, 2018a. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.microc.2018.03.023>>. **(ANEXO A)**

NASCIMENTO, M. M.; DA ROCHA, G. O.; DE ANDRADE, J. B. Customized dispersive micro-solid-phase extraction device combined with micro-desorption for the simultaneous determination of 39 multiclass pesticides in environmental water samples. **Journal of Chromatography A**, v. 1639, 2021. **(ANEXO B)**

NASCIMENTO, M. N.; DA ROCHA, G. O.; DE ANDRADE, J. B. Simple and effective dispersive micro-solid phase extraction procedure for simultaneous determination of polycyclic aromatic compounds in fresh and marine waters. **Talanta**, v. 204, n. April, p. 776–791, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.06.061>>. **(ANEXO C)**

NASCIMENTO, M.M.; DA ROCHA, G. O.; DE ANDRADE, J. B. Pesticides in the atmospheric environment: An overview on their determination methodologies. **Analytical Methods**, v. 10, n. 37, p. 4484–4504, 2018. **(ANEXO D)**

NASCIMENTO, MADSON M.; DA ROCHA, G. O.; DE ANDRADE, J. B. Pesticides in fine airborne particles: from a green analysis method to atmospheric characterization and risk assessment. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 2267, 2017. Disponível em: <<http://www.nature.com/articles/s41598-017-02518-1>>. **(ANEXO E)**

SOLA, M. C. R.; SANTOS, A. G.; MARTINEZ, S. T.; NASCIMENTO, M. M.; DA ROCHA, G. O.; DE ANDRADE, J. B. Occurrence of 3-nitrobenzanthrone and other powerful mutagenic polycyclic aromatic compounds in living organisms: polychaetes. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 1–12, 2020. **(ANEXO F)**

YERA, A. M. B.; NASCIMENTO, M. M.; DA ROCHA, G. O.; DE ANDRADE, J. B.; VASCONCELLOS, P. C. Occurrence of Pesticides Associated to Atmospheric Aerosols: Hazard and Cancer Risk Assessments. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 31, n. 6, 2020. **(ANEXO G)**

Artigos submetidos

SOLA, M. C.; SANTOS, A. G.; NASCIMENTO, M. M.; DA ROCHA, G. O.; DE ANDRADE, J. B. Occurrence, sources, and risk assessment of potent mutagenic polycyclic aromatic compounds (PACs) in marine sediments obtained from the Todos os Santos bay in Brazil. **Marine Pollution Bulletin**, 2021 (submetido). **(ANEXO H)**

SANTIAGO, M. A.; DOS ANJOS, J. P.; NASCIMENTO, M. M.; DA ROCHA, G. O.; DE ANDRADE, J. B. A miniaturized simple binary solvent liquid phase microextraction (BS-LPME) procedure for pesticides multiresidues determination in red and rosè wines, **Microchemical Journal**, 2021.

BAHIA, P. V. B.; NASCIMENTO, M. M.; HATJE, V.; DE ANDRADE, J. B.; MACHADO, M. E. A micro-scale extraction combined with gas chromatography/mass spectrometry to simultaneous determination of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Polycyclic Aromatic Sulfur Heterocycles in marine sediments, **Journal of Chromatography A**, 2021 (submetido). **(ANEXO J)**

Patente concendida

DE ANDRADE, J. B.; DA ROCHA, G. O.; NASCIMENTO, M. M.; MACHADO, B. A. S. **Dispositivo de Três Vias Para Filtração e Microextração Sólido-Líquido**. Depositante: SENAI-CIMATEC. BR nº BR 102019011244-1. Depósito: 31 de Maio de 2019. Concessão: 27 de Outubro de 2020. **(ANEXO K)**

Prêmios e destaques

Melhor painel da divisão de Química Analítica da Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química (SBQ), que ocorreu em Joinville-SC, no período entre 27 e 30 de Maio de 2019. NASCIMENTO, M. M.; DA ROCHA, G. O.; DE ANDRADE, J. B. **A simple dispersive micro-solid phase extraction (D- μ -SPE) procedure for the simultaneous determination of polycyclic aromatic compounds in water samples**. In: 42º Reunião Anual Sociedade Brasileira de Química, Joinville, SC no período de 27 a 30 de maio de 2019. **(ANEXO L)**

Capa da edição de volume 10, n. 37, da Analytical Methods – Royal Society of Chemistry. **(ANEXO M)**

ANEXOS

ANEXO A

Microchemical Journal 139 (2018) 424–436



Contents lists available at ScienceDirect

Microchemical Journal

journal homepage: www.elsevier.com/locate/microc



A rapid low-consuming solvent extraction procedure for simultaneous determination of 34 multiclass pesticides associated to respirable atmospheric particulate matter (PM_{2.5}) by GC–MS



Madson Moreira Nascimento, Gisele Olimpio da Rocha, Jailson Bittencourt de Andrade *

Universidade Federal da Bahia, Instituto de Química, Campus de Ondina, 40170-115 Salvador, BA, Brazil
Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Energia e Ambiente - INCT, Universidade Federal da Bahia, 40170-115 Salvador, BA, Brazil
Centro Interdisciplinar em Energia e Ambiente- CIEnAm, Universidade Federal da Bahia, 40170-115 Salvador, BA, Brazil

ARTICLE INFO

Article history:

Received 5 March 2018
Received in revised form 13 March 2018
Accepted 13 March 2018
Available online 15 March 2018

Keywords:

Green analytical chemistry
Multiclass pesticides
GC–MS
Atmospheric particulate matter
PM_{2.5}

ABSTRACT

A miniaturized and low-consuming solvent extraction procedure has been developed for the simultaneous determination of 34 multiclass pesticides in PM_{2.5} samples, using sample masses as low as 321 µg. A central composite design was applied in order to establish the optimal extraction conditions: the solid-liquid extraction was done under sonication using 500 µL of a solvent mix 70/30 acetonitrile/ethyl acetate and an extraction time of 17 min at 39 °C. It was followed by injection in a GC–MS system. Recoveries ranged from 72.1% (endrin aldehyde) to 120% (sulfotep) with RSD ≤ 20% for most of pesticides. The method accuracy was assessed by determinations of organochlorine pesticides such as 4,4'-DDT, 4,4'-DDE and 4,4'-DDD in NIST SRM 1649b. PM_{2.5} samples were collected in Salvador city, State of Bahia-Brazil. 25 pesticides were successfully identified and quantified, among them organophosphates prohibited by European Union and some banned organochlorine. The average concentrations ranged from 0.88 pg m⁻³ (aldrin) to 255 pg m⁻³ (endrin aldehyde). Malathion, chlorpyrifos, 4,4'-DDE, endrin aldehyde, lambda-cyhalothrin and permethrin were detected with frequencies above 50%. This procedure was found to be comprehensive, precise, accurate and suitable to be employed for determination of pesticides associated to respirable atmospheric particulate matter.

© 2018 Elsevier B.V. All rights reserved.



Contents lists available at ScienceDirect

Journal of Chromatography A

journal homepage: www.elsevier.com/locate/chroma

Customized dispersive micro-solid-phase extraction device combined with micro-desorption for the simultaneous determination of 39 multiclass pesticides in environmental water samples

Madson Moreira Nascimento^{a,b,c}, Gisele Olímpio da Rocha^{a,b,c}, Jailson B. de Andrade^{b,c,d,*}^a Universidade Federal da Bahia, Instituto de Química, Campus de Ondina, Salvador, BA 40170-115, Brazil^b Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Energia e Ambiente - INCT, Universidade Federal da Bahia, Salvador, BA 40170-115, Brazil^c Centro Interdisciplinar de Energia e Ambiente - CIEEnAm, Universidade Federal da Bahia, Salvador, BA 40170-115, Brazil^d Centro Universitário SENAI-CIMATEC, Av. Orlando Gomes, 1845 - Piatã, Salvador, BA 41650-010, Brazil

ARTICLE INFO

Article history:

Received 20 October 2020

Revised 27 November 2020

Accepted 1 December 2020

Available online 3 December 2020

Keywords:

Agrochemicals

GC-MS

Solid-phase extraction

Environment

Water samples

ABSTRACT

A dispersive micro-solid phase extraction (d- μ -SPE) procedure was developed for the simultaneous extraction of 39 multiclass pesticides, containing a variety of chemical groups (organophosphate, organochlorine, pyrethroid, strobilurin, thiocarbamate, triazole, imidazole, and triazine), from water samples. A customized d- μ -SPE glass device was combined with a multi-tube platform vortex and a micro-desorption unit (Whatman Mini-UniPrep G2 syringeless filter), which allowed the unique simultaneous desorption, extract filtration, and injection. A simplex-centroid mixture design and Doehlert design were employed to optimize the extraction conditions. The optimized extraction conditions consisted of an extraction time of 30 min, an addition of 6.74 % of NaCl into 100 mL of water sample, and a desorption time of 24 min with 500 μ L of EtAc. The procedure provided a low limit of detection (LOD), ranging from 0.51 ng L⁻¹ (4,4-DDE) to 22.4 ng L⁻¹ (dimethoate), and an enrichment factor ranging from 72.5 (dimethoate) to 200 (tebuconazole). The relative recoveries of the pesticides from spiked freshwater and seawater ranged from 74.2 % (endrin) to 123 % (molinat). The proposed procedure was applied to detect the presence of multiclass pesticides in environmental water samples. Three pesticides commonly applied in Brazil, namely, malathion, dimethoate, and lambda-cyhalothrin, were detected in concentrations ranging from <LOD to 120 ng L⁻¹ (dimethoate).

© 2020 Published by Elsevier B.V.



Contents lists available at ScienceDirect

Talanta

journal homepage: www.elsevier.com/locate/talanta

Simple and effective dispersive micro-solid phase extraction procedure for simultaneous determination of polycyclic aromatic compounds in fresh and marine waters[☆]



Madson Moreira Nascimento^{a,b,c}, Gisele Olímpio da Rocha^{a,b,c},
Jailson Bittencourt de Andrade^{b,c,d,*}

^a Universidade Federal da Bahia, Instituto de Química, Campus de Ondina, 40170-115, Salvador, BA, Brazil

^b Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Energia e Ambiente - INCT, Universidade Federal da Bahia, 40170-115 Salvador, BA, Brazil

^c Centro Interdisciplinar de Energia e Ambiente - CIEnAm, Universidade Federal da Bahia, 40170-115, Salvador, BA, Brazil

^d Centro Universitário SENAI-CIMATEC, Av. Orlando Gomes, 1845 - Fátia, 41650-010, Salvador, BA, Brazil

ARTICLE INFO

Keywords:

Polycyclic aromatic compounds
Dispersive micro-solid phase extraction
Water sample
Gas chromatography-mass spectrometry

ABSTRACT

In this work, we developed a simple, comprehensive, and effective device and procedure for sample preparation based on dispersive micro-solid phase extraction (d- μ -SPE) for the simultaneous determination of 30 polycyclic aromatic compounds or PACs (including 16 polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), 3 quinones, and 11 nitro-PAHs) in water samples. The extraction/preconcentration step was carried out in a customized glass device (20–250 mL) using C_{18} as the sorbent. A mini-UniPrep syringeless filter was used as a desorption device, which allowed one-step desorption, filtration, and injection. The main factors affecting the d- μ -SPE were optimized using the Doehlert design. The optimal d- μ -SPE conditions were 100 mg of C_{18} , 32 min of extraction at 1000 rpm, and 20 min of sonication (at the desorption step). The limit of detection (LOD) for PAHs and nitro-PAHs ranged from 0.8 ng L⁻¹ (phenanthrene) to 1.5 ng L⁻¹ (indene [1,2,3-cd]pyrene) and from 300 ng L⁻¹ (2-nitrofluorene) to 500 ng L⁻¹ (2-nitrobiphenyl), respectively. For quinones, it varied from 1.12 μ g L⁻¹ (1,4-naphthoquinone) to 1.70 μ g L⁻¹ (9,10-phenanthrenequinone). Relative recoveries ranged from 59.1% (benzo[a]pyrene) to 110% (chrysene) for most PAHs and 68.9% (2-nitrofluorene) to 124% (1-methyl-6-nitronaphthalene) for the nitro-PAHs. The recoveries for quinones ranged from 65.3% (9,10-phenanthrenequinone) to 95.3% (9,10-anthraquinone). The enrichment factor varied from 213 (Nap) to 497 (Flu), from 39 (1,4-naphthoquinone) to 254 (9,10-anthraquinone), and from 122 (2-nitrobiphenyl) to 295 (1-methyl-4-nitronaphthalene) for the PAHs, nitro-PAHs, and quinones, respectively. After validation, the procedure was successfully applied toward the de-

CRITICAL REVIEW

[View Article Online](#)
[View Journal](#) | [View Issue](#)

 Cite this: *Anal. Methods*, 2018, 10, 4484

 Received 12th June 2018
 Accepted 26th July 2018

DOI: 10.1039/c8ay01327f

rsc.li/methods

Pesticides in the atmospheric environment: an overview on their determination methodologies†

 Madson M. Nascimento,^{id} ^{abc} Gisele O. da Rocha,^{id} ^{abc}
 and Jailson B. de Andrade,^{id} ^{*abcd}

The increasing use of synthetic substances such as pesticides has been a major concern around the world, mainly due to the great potential of atmospheric contamination. Pesticides associated with atmospheric gases or particulate matter can enter the atmosphere, reaching remote areas. Due to the low concentration of pesticides in air samples and the high complexity of this type of matrix, new extraction and detection methods have been proposed in recent years. In this review, we present and critically discuss the studies published in the last 8 years covering new data about pesticide analysis in air samples using different analytical techniques.

1. Introduction

From a historical point of view, the world population has been growing since ancient times. However, from the 1960s onwards, due the combined effects of the “Green Revolution”, it became possible to double the global food production.^{1–4} Indeed, the world population growth has been facilitated since then by this considerably higher food availability. The world population today is more than 7.6 billion people and projections from the United Nations (UN) show that it could reach 8.6 billion in 2030,

work has shown that the contamination of atmospheric air by pesticides occurs in different regions around the world. Studies carried out in rural areas in France^{8,9} and Spain¹⁰ showed concentrations of some fungicides in atmospheric particulate matter ranging from 30 ng m⁻³ to 129 ng m⁻³, as well as some herbicides (acetochlor, metolachlor and pendimethalin) and other fungicides (cyprodinil, fenpropidin, fenpropimorph and spiroxamine)⁹ in concentrations ranging from 0.2 ng m⁻³ to 1.8 ng m⁻³. Organophosphorus, pyrethroids and strobilurin were found in the particle matter collected in three islands in

SCIENTIFIC REPORTS

OPEN Pesticides in fine airborne particles: from a green analysis method to atmospheric characterization and risk assessment

Received: 2 February 2017
Accepted: 11 April 2017
Published online: 23 May 2017

Madson M. Nascimento^{1,2,3}, Gisele O. da Rocha^{1,2,3} & Jailson B. de Andrade^{1,2,3}

The intensive use of pesticides such as herbicides, insecticides, fungicides and acaricides has been lead to ubiquitous contamination, being present not only in soils, water bodies and/or crops, but also in the atmosphere. Considering the massive amount of pesticides employed globally, together to their persistence, this may be an important concern regarding air quality and human health worldwide. In the present study we developed a green sensitive sample preparation method for determination of nine organophosphates, two pyrethroids, one carbamate, and one strobilurin in PM_{2.5} collected in a tropical coastal area in the Southern Hemisphere for the first time. Extraction of PM_{2.5} sample masses, as low as 206 µg, were performed in a miniaturized device using 500 µL of a mixture containing 18% acetonitrile in dichloromethane followed by sonication for 23 minutes and injection into GC-MS. A total of 12 pesticides were identified and quantified successfully, among them, eight banned pesticides. A risk assessment exposure and cancer risk for possible carcinogenic pesticides (bifenthrin, malathion, parathion and permethrin) were performed for exposure of adults, children and infants. Hazard Quotient and cumulative exposure for organophosphate and pyrethroid pesticides were less than 1, showing that cumulative risk is within acceptable range.

Atmospheric particles with aerodynamic diameter lower than 2.5 µm (PM_{2.5}) are the most hazardous for human health because they are directly linked to respiratory diseases due their high capacity to penetrate deep in the lungs¹⁻³. According to Lelieveld *et al.*⁴, premature deaths from inhalation of PM_{2.5} in outdoor environments were 3.3 million people worldwide in 2010 and it is estimated to be more than 6.5 million premature deaths by 2050.

Particulate matter (PM) is a complex mixture composed by solid/liquid organic and inorganic substances. PM generally has atmospheric lifetimes ranging from 3 to 10 days, in typical conditions. Within this lifetime, particles can be transported over several thousands of kilometers, depending on the meteorological conditions, even being possible to reach remote regions⁴. In this way, if pesticides or other hazardous substances are adsorbed on the PM,

OPEN Occurrence of 3-nitrobenzanthrone and other powerful mutagenic polycyclic aromatic compounds in living organisms: polychaetes

Maria Claudia R. Sola^{1,2}, Aldenor G. Santos^{1,2,3}, Sabrina T. Martinez^{1,2},
Madson M. Nascimento^{2,3}, Gisele O. da Rocha^{1,2,3} & Jailson B. de Andrade^{1,2,4*}

In this work we report the occurrence of powerful mutagenic 3-nitrobenzanthrone (3-NBA), in addition to 18 polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), 6 oxygenated PAHs and 27 nitrated PAHs in polychaete worms. Benzantrone (BA), another important mutagenic polycyclic aromatic compound (PAC) also was detected in the samples. Polychaete annelids have great ecological relevance, being widely distributed in different environmental conditions, from intertidal zones up to seven thousand feet deep areas. They are abundantly found in both contaminated and uncontaminated areas and, therefore, used as indicators of the pollution status of a given area. As we know, so far, most of these PACs has not been previously reported in living organisms before. The 3-NBA concentrations determined in this study were within $0.11\text{--}5.18\ \mu\text{g g}^{-1}$. Other relevant PACs such as PAHs, quinones and nitro-PAHs were found in maximum concentrations at $0.013\ \mu\text{g g}^{-1}$ (coronene) to $11.1\ \mu\text{g g}^{-1}$ (benzo[k]fluoranthene), $0.823\ \mu\text{g g}^{-1}$ (9,10-phenanthrenequinone) to $12.1\ \mu\text{g g}^{-1}$ (1,4-benzoquinone) and 0.434 (1-nitronaphthalene) $\mu\text{g g}^{-1}$ to $19.2\ \mu\text{g g}^{-1}$ (6-nitrobenzo[a]pyrene), respectively. Principal component analysis (PCA), ternary correlations and diagnostic ratios were employed in order to propose probable sources for PACs. Although statistical analysis preliminarily has indicated both pyrogenic and petrogenic contributions, petrogenic sources were predominant reflecting the impacts of petroleum exploration and intensive traffic of boats in the study area.

Within the last several decades, estuarine and coastal environments (principally those in the vicinities of urbanized, industrialized, and/or populated areas) have been heavily impacted or have had the pollution status aggravated by a variety of anthropogenically-emitted organic and inorganic pollutants^{1–7}. Coastal and estuarine ecosystems are complex systems subjected to significant limitations in physical and chemical processes (e.g., tides, freshwater intakes, temperature variations, among others) and may also be exposed to high contaminant concentrations. Many persistent chemical pollutants such as polycyclic aromatic compounds (PACs) are deposited in these ecosystems where they may cause damage to the benthic environment and are likely to become biomagnified through the food chain, ultimately posing risks to human health⁸.

Due to the inherent hydrophobicity and lipophilicity of some PACs such as polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), once they are released into water bodies they tend to be primarily bound to suspended particles in the water column, and are eventually deposited on the surface in sediments and particles where they may be readily



Occurrence of Pesticides Associated to Atmospheric Aerosols: Hazard and Cancer Risk Assessments

Aleinnys M. B. Yera,^{a,*} Madson M. Nascimento,^{b,c,d} Gisele O. da Rocha,^{b,c,d}
Jaílson B. de Andrade^{b,c,e} and Pérola C. Vasconcellos^{a,*}

^aInstituto de Química, Universidade de São Paulo, Av. Prof. Lineu Prestes, 748,
05508-000 São Paulo-SP, Brazil

^bInstituto Nacional de Ciências e Tecnologias de Energia e Ambiente (INCT),
Universidade Federal da Bahia, Campus Ondina, 40110-903 Salvador-BA, Brazil

^cCentro Interdisciplinar de Energia e Ambiente (CIEnAm), Universidade Federal da Bahia,
Campus Ondina, 40110-903 Salvador-BA, Brazil

^dInstituto de Química, Universidade Federal da Bahia, Campus Ondina,
40110-903 Salvador-BA, Brazil

^eSENAI-CIMATEC Centro Universitário, 41650-110 Salvador-BA, Brazil

Since the 1950s, pesticides have been used in agriculture. The increase in their consumption has been observed in recent years. In this work, it was determined the concentration of pesticides in the atmosphere of São Paulo and Piracicaba cities (sugarcane plantation site) and the hazard quotients and cancer risk caused by inhalation of these compounds were calculated. Twenty-three samples were analyzed and 34 pesticides associated to atmospheric particulate matter (with diameter equal to or less than 2.5 (PM_{2.5}) and 10 μm (PM₁₀)) were investigated by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). Fourteen compounds including organochlorines, organophosphorus, and pyrethroids pesticides, were determined in these samples. The concentrations in the particulate matter ranged from 17 pg m⁻³ (tebuconazole) in Piracicaba, to 166 pg m⁻³ (endrin aldehyde) in São Paulo. The highest values of daily inhalation exposure for heptachlor were 9.0 × 10⁻⁵ mg kg⁻¹ day⁻¹ at Piracicaba, and 6.5 × 10⁻⁵ mg kg⁻¹ day⁻¹ at São Paulo, in both cases registered in infants. The values of the hazard quotients are lower than 1.0, indicating that there is no danger to the exposed population, it is health protective. On the other hand, the cancer risk calculations for heptachlor resulted in values above those recommended by US Environmental Protection Agency (EPA).

Keywords: air pollution, particulate matter, pesticides concentration, risk assessment

ANEXO H

Fwd: A manuscript number has been assigned: MPB-D-21-00512 



Jailson de Andrade
to Gisele, me, Maria, aldo ▾

Tue, Mar 9, 5:26 AM ☆ ↶ ⋮

----- Mensagem encaminhada -----

De: Marine Pollution Bulletin <em@editorialmanager.com>

Data: seg., 8 de mar. de 2021 às 23:53

Assunto: A manuscript number has been assigned: MPB-D-21-00512

Para: Jailson B de Andrade <jailsondeandrade@gmail.com>

Marine Pollution Bulletin

Ref: MPB-D-21-00512

Title: Occurrence, sources, and risk assessment of potent mutagenic polycyclic aromatic compounds (PACs) in marine sediments obtained from the Todos os Santos bay in Brazil

Authors: Jailson B de Andrade, DSc; Maria Claudia R. Sola, DSc; Aldenor G. Santos, DSc; Madson M. Nascimento, MSc; Gisele Olimpio da Rocha, DSc

Article Type: Research Paper

Dear JB,

Your submission entitled "Occurrence, sources, and risk assessment of potent mutagenic polycyclic aromatic compounds (PACs) in marine sediments obtained from the Todos os Santos bay in Brazil" has been assigned the following manuscript number: MPB-D-21-00512.

You may check on the progress of your paper by logging on to the Editorial Manager as an author. The URL is <https://www.editorialmanager.com/mpb/>.

ANEXO I

Confirm co-authorship of submission to Microchemical Journal 



Microchemical Journal <em@editorialmanager.com>

Mon, Mar 1, 12:34 PM ☆ ↶ ⋮

 to me ▾

This is an automated message.

Journal: Microchemical Journal

Title: A miniaturized simple binary solvent liquid phase microextraction (BS-LPME) procedure for pesticides multiresidues determination in red and rosè wines

Corresponding Author: Dr Jailson Jailson Andrade

Co-Authors: Maria Antonieta P. Santiago, DSc; Jeancarlo P. dos Anjos, DSc; Madson M. Nascimento, MSc; Gisele O. da Rocha, DSc

Manuscript Number:

Dear MSc Nascimento,

Dr Jailson Jailson Andrade submitted this manuscript via Elsevier's online submission system, Editorial Manager, and you have been listed as a Co-Author of this submission.

Elsevier asks Co-Authors to confirm their consent to be listed as Co-Author and track the papers status. In order to confirm your connection to this submission, please click here to confirm your co-authorship: <https://www.editorialmanager.com/microc/l.asp?i=164089&l=FPGA0KE1>

ANEXO J

Fwd: Journal of Chromatography A Submission: Manuscript Number Assigned

Inbox x



Maria Elisabete Machado

to me ▾

8:20 PM (1 minute ago)



----- Forwarded message -----

De: **Journal of Chromatography A** <em@editorialmanager.com>

Date: seg., 15 de mar. de 2021 às 12:24

Subject: Journal of Chromatography A Submission: Manuscript Number Assigned

To: MARIA ELISABETE MACHADO <maria.elisabete@ufba.br>

Ms. No.: JCA-21-376

Title: A micro-scale extraction combined with gas chromatography/mass spectrometry to simultaneous determination of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Polycyclic Aromatic Sulfur Heterocycles in marine sediments

Corresponding Author: Dr. MARIA ELISABETE MACHADO

Dear Dr. MACHADO,

Your submission, referenced above, has been assigned the following manuscript number: JCA-21-376

You will be able to check on the progress of your paper by logging on to the Editorial Manager as an author:

<https://www.editorialmanager.com/chroma/>



REPÚBLICA FEDERATIVA DO BRASIL
MINISTÉRIO DA ECONOMIA
INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL



INPI
INSTITUTO NACIONAL
DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL
Atuando
Digitalmente

CARTA PATENTE Nº BR 102019011244-1

O INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL concede a presente PATENTE DE INVENÇÃO, que outorga ao seu titular a propriedade da invenção caracterizada neste título, em todo o território nacional, garantindo os direitos dela decorrentes, previstos na legislação em vigor.

(21) Número do Depósito: BR 102019011244-1

(22) Data do Depósito: 31/05/2019

(43) Data da Publicação Nacional: 08/10/2019

(51) Classificação Internacional: B01J 20/00; B01J 20/281; B01D 15/08; B01D 61/14; C07C 7/00.

(52) Classificação CPC: B01J 20/00; B01J 20/281; B01D 15/08; B01D 61/14; C07C 7/00.

(54) Título: DISPOSITIVO DE TRÊS VIAS PARA FILTRAÇÃO E MICROEXTRAÇÃO SÓLIDO-LÍQUIDO

(73) Titular: SERVIÇO NACIONAL DE APRENDIZAGEM INDUSTRIAL., Sociedade com intuito não econômico. CGC/CPF: 03795071000116. Endereço: R EDISTIO PONDE, 342 - STIEP, Salvador, BA, BRASIL(BR), 41770-395, Brasileira

(72) Inventor: JAILSON BITTENCOURT DE ANDRÁDE; GISELE OLÍMPIO DA ROCHA; MADSON MOREIRA NASCIMENTO; BRUNA APARECIDA SOUZA MACHADO.

Prazo de Validade: 20 (vinte) anos contados a partir de 31/05/2019, observadas as condições legais

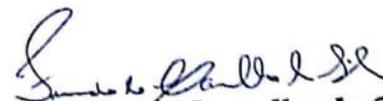


42ª REUNIÃO ANUAL
DA
SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA

Joinville – SC, 27 a 30 de maio de 2019

C E R T I F I C A D O

Atestamos que o trabalho **ANA065 - A simple dispersive micro-solid phase extraction (D- μ -SPE) procedure for the simultaneous determination of polycyclic aromatic compounds in water samples**, de autoria de *Madson Moreira Nascimento (UFBA); Da Rocha, G. O. (UFBA); De Andrade, J. B. (UFBA)*, foi eleito como um dos melhores painéis apresentados na Seção de QUÍMICA ANALÍTICA, realizada durante a **42ª REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA**, em Joinville – SC.


Fernando de Carvalho da Silva
Presidente da Comissão Organizadora
42ª RASBQ

Analytical Methods

rsc.li/methods



ISSN 1759-9679



CRITICAL REVIEW
Julson B. de Andrade et al.
Pesticides in the atmospheric environment: an overview on their determination methodologies