

KAREN CHIBANA FERREIRA

Aplicação de solventes eutéticos profundos hidrofóbicos na determinação de parabenos e bisfenol A em amostras de lodo de esgoto usando cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas com introdução da amostra via pirolisador

Dissertação apresentada ao Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, como requisitos para obtenção do título de Mestra em Química

Orientador: Prof. Dr. Paulo Clairmont Feitosa de Lima
Gomes

Coorientador: Prof. Dr. Mario Henrique Gonzalez

Araraquara
2024

F383a Ferreira, Karen Chibana

Aplicação de solventes eutéticos profundos hidrofóbicos na determinação de parabenos e bisfenol A em amostras de lodo de esgoto usando cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas com introdução da amostra via pirolisador / Karen Chibana Ferreira. – Araraquara, 2024

98 f. : il.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Química, Araraquara

Orientador: Paulo Clairmont Feitosa de Lima Gomes

Coorientador: Mario Henrique Gonzalez

1. Preparo de amostras (Química). 2. Misturas (Química). 3. Pirólise. 4. Cromatografia a gás. 5. Contaminantes emergentes na água. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do Instituto de Química, Araraquara. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

Impacto potencial desta pesquisa

A aplicação da abordagem desenvolvida neste estudo pode contribuir para o avanço de métodos analíticos sustentáveis para quantificar os contaminantes em amostras ambientais, como lodo, usando HDES como extratores. Além do desenvolvimento de novos HDES para monitorar diferentes contaminantes, melhorando práticas de gestão ambiental, inserindo abordagens inovadoras que atendam às demandas da química analítica verde.

Potencial impact of this research

The application of the approach developed in this study can contribute to the advancement of sustainable analytical methods for quantifying contaminants in environmental samples, such as sludge, using HDES as extractors. In addition to developing new HDES for monitoring various contaminants, it improves environmental management practices by incorporating innovative approaches that meet the demands of green analytical chemistry.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO**TÍTULO DA DISSERTAÇÃO:**

"Aplicação de solventes eutéticos profundos hidrofóbicos na determinação de parabenos e bisfenol A em amostras de lodo de esgoto usando cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas com introdução da amostra via pirolisador"

AUTORA: KAREN CHIBANA FERREIRA**ORIENTADOR: PAULO CLAIRMONT FEITOSA DE LIMA GOMES**

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em Química, pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. PAULO CLAIRMONT FEITOSA DE LIMA GOMES (Participação Virtual)
Departamento de Química Analítica, Físico-Química e Inorgânica / Instituto de Química - UNESP - Araraquara

Prof. Dr. JOSIAS DE OLIVEIRA MERIB (Participação Virtual)
Departamento de Farmacociências / Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre - UFCSPA - Porto Alegre

Prof. Dr. FLAVIO JUNIOR CAIRES (Participação Virtual)
Departamento de Química / Faculdade de Ciências - Unesp/Campus de Bauru

Documento assinado digitalmente
 PAULO CLAIRMONT FEITOSA DE LIMA GOMES
Data: 01/02/2024 17:07:35-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Araraquara, 01 de fevereiro de 2024

DADOS CURRICULARES

IDENTIFICAÇÃO:

Nome: Karen Chibana Ferreira

Nome em citações bibliográficas: FERREIRA, K. C.

ENDEREÇO PROFISSIONAL:

Rua Prof. Francisco Degni, nº 55

CEP - 14.800-900

Bairro Jardim Quitandinha - Araraquara – SP

FORMAÇÃO ACADÊMICA/TITULAÇÃO

Graduação em Licenciatura em Química – instituto de Química (UNESP)

PRODUÇÃO BIBLIOGRÁFICA

Artigos publicados:

Ferreira, S. S.; Brito, T. A.; Santana, A. P. R.; Guimarães, T. G.S.; Lamarca, R. S.; Ferreira, K. C.; Lima Gomes, P. C. F.; Oliveira, A.; Amaral, C. D.B.; Gonzalez, M. H. Greenness of procedures using NADES in the preparation of vegetal samples: Comparison of five green metrics. *Talanta Open*, v. 6, p. 100131, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.talo.2022.100131>.

Silva, E. A. da; Ferreira, K. C. A Prática de Ensino de Ciências e Química na Educação Escolar Indígena: Um Mapeamento das Publicações no catálogo da Capes. **Linguagem: Estudos e Pesquisas**, Goiânia, v. 25, n. 1, p. 15–27, 2022. DOI: 10.5216/lep.v25i1.71624.

Apresentações de trabalho:

FERREIRA, Karen C. **Determination of parabens and bisphenol A in sludge samples using hydrophobic deep eutectic solvents by Py-GC-MS**. 46^a Reunião anual da SBQ, apresentação de painel, 2023

FERREIRA, Karen C. **Síntese de solventes eutéticos profundos hidrofóbicos (HDES) aplicado no preparo de amostras ambientais**. Workshop INCT-DATREM, apresentação oral, 2022

Dedico este trabalho aos meus pais, Marcos e Elizabeth, e meus irmãos Eric e Renan, pelo apoio incondicional em todos os momentos da minha trajetória.

Agradecimentos

Ao meu orientador, Prof. Dr. Paulo Clairmont, pela confiança depositada durante toda a minha trajetória. Pelo incentivo nos momentos desafiadores, que me fizeram crescer como pesquisadora. Obrigada por contribuir para a minha jornada de descobrimento e aprendizado.

Ao meu coorientador, Prof. Dr. Mario Henrique Gonzalez, pela disponibilidade, compreensão e apoio ao longo deste percurso acadêmico.

À minha família, em especial, meus pais Marcos e Elizabeth, meus irmãos Eric e Renan que sempre me incentivaram a estudar e desenvolver como profissional. Obrigada pelo carinho, amor e confiança durante toda minha trajetória, vocês foram o motivo que me fizeram chegar até aqui.

Ao meu grupo de pesquisa, Thais, Saidy, Thiago, Gabriel, Iara e Letícia por tornarem todos os momentos dentro do laboratório divertidos e ainda assim um ambiente de muito aprendizado. Um agradecimento especial a Thais, pelo apoio e amizade.

Aos amigos que tive o prazer de conhecer, Guilherme, Lucas Silva, Carol, Evilim, e Thaís Betoni, Caio, Weida, João Pedro e Hernán, que sempre compartilhavam comigo a melhor hora do café, vocês tornaram tudo mais leve. Agradeço especialmente ao Guilherme pelas discussões valiosas sobre análise térmica e amizade.

Ao meu namorado, João Paulo, por acreditar no meu potencial, por me incentivar a buscar o melhor de mim e fortalecer a minha confiança para superar os desafios que surgiram nessa jornada. Obrigada pelas risadas, amor e discussões científicas.

Aos meus amigos que fiz na graduação em Licenciatura em Química, Fernanda, Francine, Beatriz, Patrícia e Lucas, que me acompanharam e dividiram comigo, as angústias, risadas e aventuras, vocês foram essenciais.

Ao Instituto de Química por possibilitar o desenvolvimento da minha pesquisa.

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de financiamento 88887.857231/2023-00.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP)

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)

Resumo

A presença de contaminantes emergentes (CEs) foi o foco de discussões, devido à preocupação com os riscos que esses compostos representavam para a saúde humana e ao meio ambiente. Nesse contexto, a busca por métodos analíticos ambientalmente sustentáveis era considerada essencial. Uma resposta a essa demanda foi a geração recente de solventes, incluindo os solventes eutéticos profundos hidrofóbicos (HDES), que foram preparados pela combinação de dois ou três precursores, estabelecendo ligações de hidrogênio intermoleculares entre uma espécie doadora (HBD) e uma espécie receptora (HBA). Deste modo, o objetivo principal do estudo desenvolvido foi contribuir para o avanço de métodos analíticos sustentáveis, fornecendo uma abordagem eficiente para a detecção e quantificação de CEs em amostras ambientais, como lodo, utilizando os HDES como solventes extratores. A caracterização desses solventes envolveu a avaliação de parâmetros como densidade e viscosidade, além do uso da espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR). A preparação dos HDES a partir de precursores como o DL-mentol (HBA) e ácidos orgânicos (decanóico, dodecanóico, acético), atuando como HBDs, foi rápida e simples, com aquecimento da mistura a 60 °C por 20 minutos, seguido de resfriamento à temperatura ambiente. Todos os HDES eram límpidos, com exceção do ácido dodecanóico, que apresentava coloração amarelada devido ao precursor usado. Apesar de terem densidade menor que a água, facilitando a coleta da fase orgânica para análises, os HDES possuíam viscosidade maior em comparação com a água. A caracterização por FTIR e análises termoanalíticas confirmaram a formação do solvente, evidenciada pela presença da banda de absorção referente à hidroxila (O—H) e eventos endotérmicos indicando pontos de fusão inferiores dos HDES em comparação com seus precursores puros. O planejamento fatorial analisou temperatura, tempo e volume de amostra para aplicação na determinação de metilparabeno (MeP), propilparabeno (PrP), butilparabeno (BuP) e bisfenol A (BPA). Ferramentas quimiométricas indicaram que a resposta analítica era diretamente proporcional ao aumento do volume de injeção, sendo o valor ideal de 20 µL. Na microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME), as condições ótimas foram 300 µL de HDES, 350 µL de ACN como solvente dispersor, pH igual a 10, diluição do lodo em 50 vezes e 27% m/v de NaCl. A avaliação das figuras de mérito indicou recuperação superior a 90 %, precisões intra e inter dia inferiores a 15 %, e o limite de detecção (LOD) foi estabelecido em um intervalo de 25 a 50 µg L⁻¹. O método demonstrou seletividade, evitando interferentes na resposta analítica. A aplicação dos HDES em matrizes ambientais permitiu a determinação de contaminantes emergentes, seguindo os princípios da química analítica sustentável, o que foi confirmado aplicando o sistema métrico de avaliação AGREE, no qual apresentou valores de 0,72 e 0,76 correspondentes ao método utilizado e o preparo de amostra.

Abstract

The presence of emerging contaminants (ECs) has been the subject of discussions due to concerns about the risks these compounds pose to human health and the environment. In this context, the pursuit of environmentally sustainable analytical methods has been considered essential. One response to this demand has been the recent generation of solvents, including hydrophobic deep eutectic solvents (HDES), which have been prepared by combining two or three precursors, establishing intermolecular hydrogen bonds between a donor species (HBD) and an acceptor species (HBA). Thus, the main objective of the study was to contribute to the advancement of sustainable analytical methods, providing an efficient approach for the detection and quantification of ECs in environmental samples, such as sludge, using HDES as extracting solvents. The characterization of these solvents involved the evaluation of parameters such as density and viscosity, as well as the use of Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR). The preparation of HDES from precursors such as DL-menthol (HBA) and organic acids (decanoic, dodecanoic, acetic), acting as HBDs, was quick and simple, involving heating the mixture at 60°C for 20 minutes followed by cooling to room temperature. All HDES were clear, except for dodecanoic acid, which exhibited a yellowish color due to the precursor used. Despite having a density lower than water, facilitating the collection of the organic phase for analysis, HDES had higher viscosity compared to water. Characterization by FTIR and thermoanalytical analyses confirmed the formation of the solvent, evidenced by the presence of the hydroxyl (O—H) absorption band and endothermic events indicating lower melting points of HDES compared to their pure precursors. Factorial design analyzed temperature, time, and sample volume for application in the determination of methylparaben (MeP), propylparaben (PrP), butylparaben (BuP), and bisphenol A (BPA). Chemometric tools indicated that the analytical response was directly proportional to the increase in injection volume, with the ideal value being 20 μL . In dispersive liquid-liquid microextraction (DLLME), the optimal conditions were 300 μL of HDES, 350 μL of ACN as a dispersing solvent, pH equal to 10, sludge dilution by 50 times, and 27% m/v of NaCl. Evaluation of the figures of merit indicated a recovery rate exceeding 90%, intra- and inter-day precisions below 15%, and the limit of detection (LOD) established in the range of 25 to 50 $\mu\text{g L}^{-1}$. The method demonstrated selectivity, avoiding interferences in the analytical response. The application of HDES in environmental matrices allowed the determination of emerging contaminants, following the principles of sustainable analytical chemistry, which was confirmed by applying the AGREE evaluation metric system, resulting in values of 0.72 and 0.76 corresponding to the method used and sample preparation.

LISTA DE FIGURA

Figura 1. Contaminantes emergentes mais comuns vindos das atividades antrópicas.....	17
Figura 2. Combinações entre os precursores HBA e HBD para a formação dos HDES.	28
Figura 3. Variáveis selecionadas para a triagem e refinamento dos experimentos.....	32
Figura 4. Aplicação de modelos estatísticos empregados nas etapas de otimizações.	33
Figura 5. Etapas aplicadas na DLLME, sendo destacada a separação da fase orgânica (A) da fase aquosa (B).....	36
Figura 6. Sistema de um pirólizador Multi-Shot EGA/PY-3030D.....	38
Figura 7. Abordagem dos 12 princípios da química analítica verde (GAC)	41
Figura 8. Estruturas moleculares do HBA e dos HBDs utilizados na produção dos HDES.....	44
Figura 9. Mistura dos precursores para a produção dos HDESS a) DL-mentol:AcA b) DL-mentol:DecA c) DL-mentol:DoDecA.....	44
Figura 10. Foto obtida após o preparo dos HDES a) DL- mentol:AcA (1:1) b) DL-mentol:DecA (1:1) c) DL- mentol:DoDecA (2:1).	52
Figura 11. Foto obtida após a mistura de DL-mentol:DoDecA em diferentes razões molares a) 1:2 b) 1:1.....	53
Figura 12. Gráfico da variação da densidade e viscosidade do DL-mentol:AcA durante o período de 20 semanas, e posteriormente uma vez ao mês durante 8 meses.....	57
Figura 13. Espectro de infravermelho (FTIR) obtido para os precursores e a mistura eutética (DL-mentol:AcA).....	58
Figura 14. Espectro de infravermelho (FTIR) obtido para os precursores e a mistura eutética (DL-mentol:DecA).	59
Figura 15. Parte 1 - Espectro de infravermelho (FTIR) obtido para os precursores e a mistura eutética (DL-mentol:DoDecA).	60
Figura 16. Espectro de FTIR dos HDES após o período de um ano a) DL-mentol:AcA b) DL-mentol:DecA c) DL-mentol:DoDecA.....	61
Figura 17. Espectros de FTIR obtidos a partir da técnica de EGA para o DL-mentol:DecA a) DecA b) DL-mentol c) DL-mentol:DoDecA (2022) d) DL-mentol:DoDecA (2023).	62
Figura 18. Espectros de FTIR obtidos a partir da técnica de EGA para o DL-mentol:DoDecA a) DoDecA b) DL-mentol c) DL-mentol:DecA (2022) d) DL-mentol:DecA (2023).	63
Figura 19. Espectros de FTIR obtidos a partir da técnica de EGA para o DL-mentol:AcA a) AcA b) DL-mentol c) AcA (2022) d) DL-mentol (2023) e) AcA (2023) f) Acetato de mentila (2023).....	64
Figura 20. Eventos endotérmicos correspondentes aos pontos de fusão dos precursores utilizados no preparo dos HDES a) DL-mentol b) AcA c) DecA d) DoDecA.....	66

Figura 21. Eventos endotérmicos correspondente aos pontos de fusão dos HDES selecionados para estudo preliminar do trabalho, obtidos por análise de DSC a) DL-mentol: AcA (1:1) b) DL-mentol:DecA (1:1) d) DL-mentol:DoDecA (2:1).....	67
Figura 22. Investigação dos eventos endotérmicos correspondente aos pontos de fusão dos HDES em diferentes proporções para a) DL-mentol:AcA (1:2) b) DL-mentol:AcA (2:1) c) DL-mentol:DecA (1:2).	68
Figura 23. Curvas termogravimétricas obtidas para os HDES a) TGA DL-mentol:AcA (linha preta); DTA DL-mentol:ácido AcA (linha vermelha); b) TGA DL-mentol:DecA (linha preta); DTA DL-mentol:DecA (linha vermelha); c) TGA DL-mentol:DoDecA (linha preta); DTA DL-mentol +DoDecA (linha vermelha).....	69
Figura 24. Curvas termogravimétricas de (linha preta) e DTA (linha vermelha) dos padrões a) metilparabeno b) propilparabeno c) butilparabeno d) bisfenol A.	70
Figura 25. Gráfico de Pareto obtido após a aplicação de DOE para avaliar a introdução da amostra usando o pirolisador.....	71
Figura 26. Gráfico de Pareto obtido pelo planejamento fatorial fracionário 2^{5-1} destacando as variáveis mais significativas nessa avaliação.	72
Figura 27. Gráfico de Pareto obtido pelo planejamento fatorial com composto central destacando as variáveis mais significativas na etapa de extração pela DLLME.	73
Figura 28. Superfície de resposta das variáveis significativas obtidas após a aplicação de DOE na etapa da DLLME.....	73
Figura 29. Foto da DLLME usando o HDES como solvente extrator em amostra aquosa	76
Figura 30. Cromatogramas dos padrões dos analitos obtidos no modo SCAN a concentração de 10 mg L^{-1} em solvente (MeOH).....	77
Figura 31. Cromatograma obtido no modo SIM contendo todos os analitos em MeOH na concentração de $3,00 \text{ mg L}^{-1}$	78
Figura 32. Cromatograma do lodo obtido no modo SIM para os analitos, utilizando um volume de $20 \mu\text{L}$ de amostra.....	79
Figura 33. Cromatograma obtido após a DLLME dos analitos fortificados na concentração de $415 \mu\text{g L}^{-1}$ (MeP) e $830 \mu\text{g L}^{-1}$ (PrP, BuP e BPA) em lodo. ...	79
Figura 34. Estudo da linearidade do método proposto para os analitos após a etapa da DLLME	81
Figura 35. Comparação entre os cromatogramas da amostra de lodo obtidos a partir do a) eluato da DLLME e b) do lodo sem fortificar.	85
Figura 36. Resultados da análise AGREE para a) método b) preparo de amostra.	86

LISTA DE TABELA

Tabela 1. Determinação dos CEs em amostras de águas residuárias em diferentes regiões.....	18
Tabela 2. Estrutura molecular e propriedades físico-químicas do BPA.	23
Tabela 3. Estrutura molecular e propriedades físico-químicas dos parabenos.....	24
Tabela 4. Propriedades físico-químicas dos precursores usados no preparo dos HDES e razões molares dos precursores e a massa real utilizada no processo de produção dos HDES.....	45
Tabela 5. Razões molares dos precursores e a massa real utilizada no processo de produção dos HDES.....	45
Tabela 6. Variáveis escolhidas para um DOE completo para avaliar os parâmetros significativos na etapa de injeção da amostra.	48
Tabela 7. Variáveis escolhidas para um DOE fracionário para avaliar os parâmetros significativos na etapa da DLLME.	49
Tabela 8. Planejamento Composto Central (CCD), utilizado como parâmetro de refinamento das variáveis significativas obtidas na etapa exploratória.	49
Tabela 9. Informações de entrada para avaliação do método e preparo de amostra inseridas no software.....	51
Tabela 10. Avaliação da estabilidade do HDES (DL-mentol:AcA) em relação a sua viscosidade e densidade após um ano do seu preparo.....	55
Tabela 11. Valores de densidade dos HDES preparados.....	56
Tabela 12. Valores dos pontos de fusão de cada precursor, obtidos através da ficha FISPQ, e experimentalmente.....	66
Tabela 13. Caracterização do lodo filtrado	75
Tabela 14. Figuras de mérito do método analítico proposto para aplicação em amostras de lodo fortificada com MeP, PrP, BuP e BPA.	82
Tabela 15. Figuras de mérito do método analítico proposto feitas em solvente (MeOH) fortificada com MeP, PrP, BuP e BPA.	82
Tabela 16. Parte 1 - Resultados referentes a precisão em relação a repetibilidade intra-dia e precisão inter-dia do método proposto usado HDES e DLLME.....	83
Tabela 17. Comparação entre o método desenvolvido neste trabalho e os obtidas na literatura com a aplicação da DLLME para determinação do MeP, PrP, BuP e BPA em diferentes amostras.	88
Tabela 18. Parâmetros avaliados na DLLME e avaliação da sustentabilidade do método.	88

SIGLAS

AcA	ácido acético
DecA	ácido decanóico
DoDecA	ácido dodecanóico
ANA	Agência Nacional das Águas
EGA	Análise dos gases desprendidos
DTA	Análise Térmica Diferencial
BPA	Bisfenol A
BuP	Butilparabeno
DSC	Calorimetria Exploratória Diferencias
TOC	carbono orgânico total
CV%	Coeficiente de variação
CEs	Contaminantes emergentes
Py-GC-MS	Cromatografia gasosa de pirólise acoplada ao espectrômetro de massa
DBO	Demanda bioquímica de oxigênio
ρ	Densidade
EDCs	Desreguladores endócrinos
HBA	Espécie receptora
HBD	Espécies doadoras
FTIR	Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier
ETA	Estações de Tratamento de Água
ETEs	Estações de tratamento de esgoto
LLE	Extração líquido-líquido
EF	Fator de enriquecimento
AGREE	GREENness Analítica
NEMI	Índice nacional de métodos ambientais
LOD	Limite de detecção
LOQ	Limite de quantificação
MeP	Metilparabeno
DLLME	Microextração líquido-líquido dispersiva
OD	Oxigênio dissolvido

CCD	Planejamento com composto central
DOE	Planejamento de experimentos
p.f	Ponto de fusão
POA	Processos oxidativos avançados
PrP	Propilparabeno
GAC	Química analítica verde
SNIS	Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento
DES	Solventes eutéticos profundos
HDES	Solventes eutéticos profundos hidrofóbicos
NADES	Solventes eutéticos profundos naturais
TG	Termogravimetria
NTU	Unidades Nefelométricas de Turbidez

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	16
1.1. Contaminantes emergentes	16
1.2. Bisfenol A (BPA)	22
1.3. Parabenos	24
1.4. Solventes Eutéticos Profundos Hidrofóbicos (HDES)	25
1.5. Caracterização dos HDES	29
1.5.1 Infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)	29
1.5.2 Análise térmica	30
1.5.3 Densidade e Viscosidade	30
1.6. Planejamento de Experimentos (DOE)	31
1.7. Microextração Líquido-Líquido Dispersiva (DLLME)	34
1.8. Aplicação em amostra e quantificação por Py-GC-MS	37
1.9. Avaliação das figuras de mérito	38
1.10. Aplicação da GREENness Analítica (AGREE)	40
2. OBJETIVO	38
2.1 Objetivos específicos	43
3. MATERIAL E MÉTODO	38
3.1. Materiais	43
3.2. Preparo dos HDES	43
3.3. Avaliação dos parâmetros físico-químicos dos HDES	45
3.4. Infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)	45
3.5. Análise termoanalítica	46
3.6. Caracterização físico-química da amostra de lodo	46
3.7. Microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME)	47
3.8. Cromatografia gasosa de pirólise acoplada ao espectrômetro de massas (Py-GC-MS)	47
3.9. Planejamento de experimentos (DOE)	48
3.10. Avaliação das figuras de mérito	50
3.11. Aplicação das métricas verdes para o método desenvolvido e o preparo de amostra	51
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES	47
4.1 Preparo dos solventes eutéticos profundos hidrofóbicos (HDES)	52
4.2 Caracterizações dos HDES	53
4.2.1. Avaliação da viscosidade e densidade do HDES	53

4.2.2. Caracterização do HDES usando espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)	58
4.2.3. Caracterização termoanalítica dos HDES.....	65
4.3 Planejamento fatorial para a avaliação da introdução da amostra no pirolisador.....	70
4.4 DLLME em amostra de lodo doméstico	74
4.5 Cromatografia gasosa de pirólise acoplada ao espectrômetro de massas (Py-GC-MS)	76
4.6 Avaliação das figuras de mérito do método desenvolvido.....	80
4.7 Avaliação da GREENness Analítica (AGREE) para o método proposto.....	86
4.8 Análise comparativa entre o método sugerido e outras abordagens mencionadas na literatura.....	87
5. CONCLUSÃO.....	89
6. PERSPECTIVAS.....	90
7. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA.....	91
8. APÊNDICE.....	98

1. INTRODUÇÃO

1.1. Contaminantes emergentes

No decorrer dos anos, inúmeras atividades humanas vêm sendo responsáveis pela introdução de contaminantes no ecossistema. O surgimento do termo contaminantes emergentes (CEs) tornou-se alvo de estudos relevantes na última década, motivados principalmente, pela preocupação global acerca da elevada demanda de água limpa. Com o aumento da população global, essa tendência tem se acentuado, resultando também no aumento da quantidade de resíduos domésticos, industriais e agrícolas despejados frequentemente nos recursos hídricos. A categoria, na qual os CEs estão inseridos, refere-se a qualquer substância química identificada no ciclo da água que ainda não havia sido detectada anteriormente, e que, portanto, ainda não é regulamentado por uma agência. Essas substâncias frequentemente apresentam-se em níveis de concentração de $\mu\text{g L}^{-1}$ a ng L^{-1} [1], [2].

Compostos químicos denominados desreguladores endócrinos (EDCs) são um grupo importante de CEs, pois afetam de maneira negativa a saúde dos seres vivos e do meio ambiente. Estes EDCs são produtos químicos exógenos que têm a capacidade de imitar ou retardar os processos naturais dos sistemas endócrinos em humanos e animais. Os EDCs são encontrados principalmente em produtos manufaturados, como brinquedos infantis, garrafas plásticas, tubos de policloreto de vinila, detergentes, pasta de dente e cosméticos [1], [3].

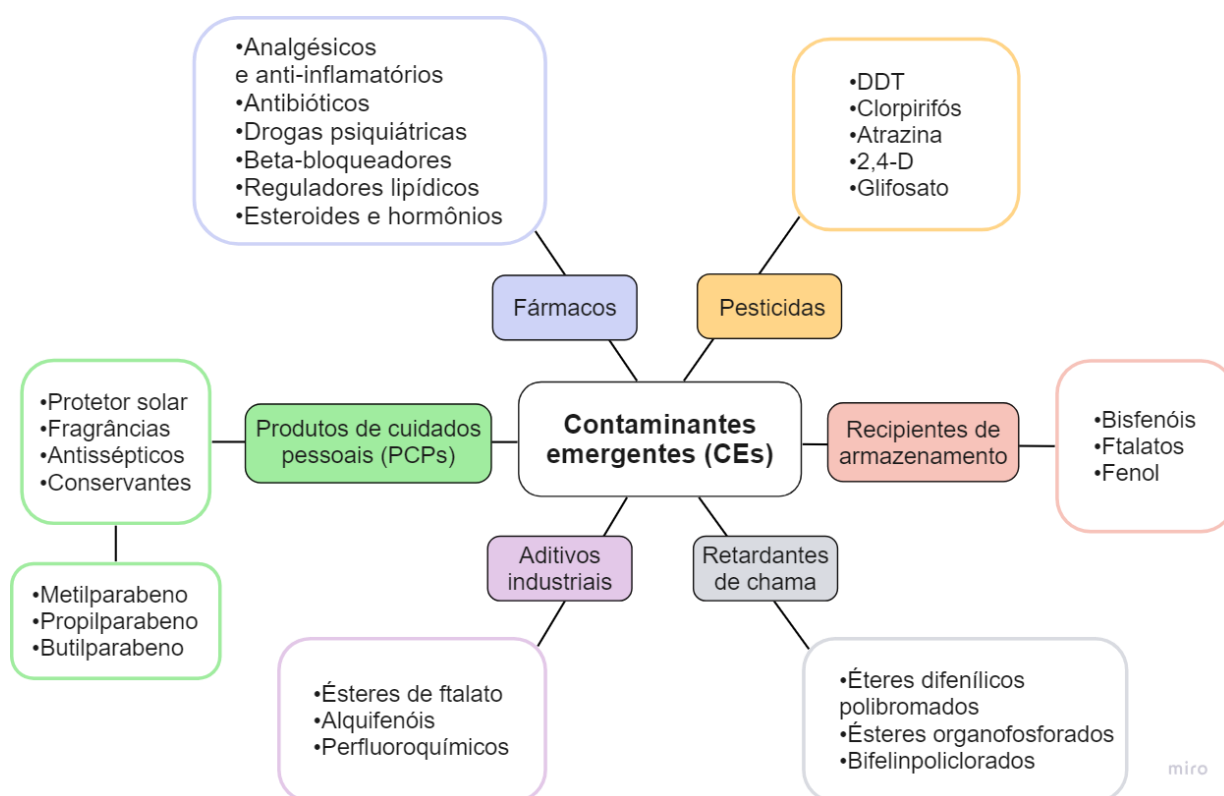
O sistema endócrino desempenha um papel crucial na síntese e liberação de substâncias químicas no organismo, as quais são transportadas para locais receptores onde interagem com alvos específicos. Deste modo, o sistema é responsável por regular funções essenciais, como metabolismo, homeostase, comportamento, desenvolvimento e reprodução. O sistema endócrino pode sofrer algumas alterações e perturbações em sua função devido à ação dos EDCs, que se conectam a diversos tipos de receptores. Essa interação resulta na inibição de atividades hormonais e outros mecanismos biológicos [3].

Os CEs são compostos encontrados em diversas matrizes ambientais, tais como a água, solo e ar, sendo oriundos de ação antrópica ou natural. Os processos comuns aplicados nas estações de tratamento de esgoto (ETEs) não

são eficientes de retirá-los da água, portanto, os efeitos nocivos, a curto e longo prazo, para a saúde humana e aos demais seres vivos são eminentes. Apenas uma pequena parcela dessas substâncias possui uma legislação vigente, e embora estejam em faixa de concentração reduzida, os efeitos ecotoxicológicos ainda ocorrem.

O efeito antrópico, ou seja, a ação humana sobre o meio ambiente, pode ocorrer de várias formas pelo uso de produtos que contenham contaminantes. Os seus resíduos podem ser encontrados em efluentes domésticos, hospitalares, industriais, além do uso de certos produtos na agricultura e na pecuária. Na Figura 1 é possível observar os principais contaminantes e suas classes advindos de atividades humanas [4], [5].

Figura 1. Contaminantes emergentes mais comuns vindos das atividades antrópicas.



Fonte: Adaptado de MAHUGO-SANTANA, C. et al. Application of new approaches to liquid-phase microextraction for the determination of emerging pollutants. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 30, p. 731-748, 2011 [6].

Embora estejam presentes nos efluentes em concentrações muito baixas, a incidência dos EDCs está cada vez maior. Na Tabela 1, é possível observar

alguns dados acerca dos valores de concentração encontrados em matrizes aquáticas, tanto para o metil, propil, butilparabeno (MeP, PrP e BuP) como para o bisfenol A (BPA), que foram estudados neste estudo.

Tabela 1. Determinação dos CEs em amostras de águas residuárias em diferentes regiões.

Localização	Concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$)				Ref
	MeP	PrP	BuP	BPA	
Brasil	171	0,01 - 3,59	--	0,0560 - 0,309	[7][8][9]
Brasil	8,00	13,1	15,1	--	[10]
Brasil	0,0480 - 0,265	0,00320 - 0,486	0,00690 - 0,133	--	[11]
Brasil	0,0017 - 2,87	0,0017 - 0,486	0,0020 - 0,286	--	[12]
China	0,0190- 0,154	0,001 - 0,00218	0,990	--	[13]
Sérvia	--	--	--	0,00680	[1]
Grécia	0,600	0,600	0,600	--	[1]

Fonte: Elaborado pela autora

O monitoramento dos CEs nos recursos hídricos é necessário, principalmente, para avaliação da qualidade da água, uma vez que a incidência de diversos problemas de saúde está relacionada à presença desses contaminantes. Por serem bioacumuláveis, os contaminantes emergentes podem afetar toda a cadeia alimentar, gerando uma série de problemas para o meio ambiente [14].

Segundo a Agência Nacional das Águas (ANA) [14], o monitoramento das características físicas, químicas e biológicas das águas superficiais e subterrâneas são fundamentais para a sociedade, ao passo que contribuem para a determinação da qualidade da água, além de possibilitar propostas alternativas para resolver problemas. O monitoramento permite determinar os impactos das atividades industriais, agrícolas e domésticas, e a partir desses dados, propor ações mitigatórias.

Para que houvesse planejamento e gestão do setor de saneamento básico no Brasil foi criado o Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento (SNIS), administrado pela Secretaria Nacional de Saneamento do Ministério do Desenvolvimento Regional (SNS/MDR). Esse sistema permite o levantamento e coleta de dados da maioria dos municípios brasileiros, por se tratar de um sistema ancorado em plataformas digitais (SNIS Web e SNIS-AP), norteando a

“formulação de políticas públicas e de programas, a definição e monitoramento de metas e a atividade de regulação e fiscalização dos serviços.” [15].

Como forma de apresentar as principais características, informações e análises da prestação de serviços no território brasileiro, o SNIS publica um conjunto de quatro diagnósticos temáticos em cada módulo, sendo o de Água e Esgoto, Resíduos Sólidos e Águas Pluviais, respectivamente.

De acordo com o documento, a atualização da Lei nº 11.445/2007 pela Lei nº 14.026/2020 define o saneamento básico como “o conjunto de serviços públicos, infraestruturas e instalações operacionais de abastecimento de água potável, de esgotamento sanitário, de limpeza urbana e manejo de resíduos sólidos e de drenagem e manejo das águas pluviais urbanas.” [15].

Dessa forma, busca-se à melhoria contínua da qualidade de vida da população pela visão integrada dos componentes (Água e Esgoto, Resíduos Sólidos e Águas Pluviais), como fatores determinantes para o desenvolvimento urbano e regional, por meio de políticas de habitação, proteção ambiental, combate à pobreza, entre outros.

Referindo-se ao sistema de esgotamento sanitário, que se constitui da “disponibilização e manutenção de infraestruturas e instalações operacionais necessárias à coleta, ao transporte, ao tratamento e à disposição final adequada dos esgotos sanitários” [15], se faz importante monitorar a qualidade dos resíduos para que seja possível produzir água de reuso ou lançar de forma adequada o produto deste processo ao meio ambiente.

De acordo com o Diagnóstico Temático publicado em 2022, 93,5% dos brasileiros que vivem em áreas urbanas possuem o atendimento das redes públicas de abastecimento de água.

O tratamento de água para abastecimento das áreas urbanas segue um processo específico das Estações de Tratamento de Água (ETA), de águas captadas em mananciais hídricos, superficiais e/ou subterrâneos, respectivamente. Porém, não existe tecnologia para o monitoramento dos parabenos e bisfenol A, durante o processo, o que torna ainda mais necessário o desenvolvimento de novos métodos analíticos.

O processo que ocorre dentro das ETAs tem como objetivo a remoção de impurezas e microorganismos que possam afetar a qualidade da água, por meio de processos físicos e químicos, refletindo sobre a saúde pública.

Esse sistema conta com os procedimentos de coagulação e floculação, decantação, filtração, desinfecção e fluoretação, que permitem condicionar a qualidade da água para uso doméstico, distribuída pelas tubulações da rede pública para seus consumidores [14].

Em relação ao outro parâmetro constituinte do ciclo de saneamento básico, o tratamento de esgoto, tem como objetivo evitar a poluição e contaminação dos recursos hídricos, que diversas vezes são utilizados como fonte da água bruta captada para abastecimento da população.

Após a utilização da água em domicílio, os efluentes domésticos são constituídos por 99,9% de água e 0,1% de sólidos, incorporados por materiais orgânicos e nutrientes que são removidos durante o tratamento do esgoto, podendo retornar aos ambientes naturais [14], [16].

O tratamento do esgoto ocorre dentro das ETE, e promove três fases de tratamento, sendo o preliminar (primário), secundário e terciário. A Fase Preliminar tem como objetivo a remoção de sólidos em suspensão, por meio de gradeamento e desarenação, de materiais com proporções maiores. Já o tratamento primário busca a remoção de sólidos sedimentáveis e partículas de matéria orgânica em decantadores primários.

O tratamento secundário, também denominado como tratamento biológico, trata-se da "degradação da matéria orgânica por processos aeróbios e/ou anaeróbios em tanques sépticos, lagoas de estabilização, sistemas de lodo ativado" [15], entre outros.

No que se refere ao tratamento terciário, o objetivo é a remoção de poluentes específicos, de nutrientes como nitrogênio e fósforo, microorganismo patogênicos, compostos tóxicos ou componentes não biodegradáveis.

Há ainda a possibilidade de usar tecnologias avançadas de oxidação ou mesmo membranas filtrantes. Os processos oxidativos avançados (POA) têm sido enfatizados como métodos de tratamento alternativos que promovem a degradação de espécies orgânicas por meio da ação do radical hidroxila (HO.). Se destacam por converter, parcial ou integralmente, os contaminantes em formas mais simples, tais como dióxido de carbono, água, ânions inorgânicos, ou substâncias menos tóxicas e suscetíveis à degradação por tecnologias convencionais [17].

Desta maneira, após o tratamento aplicado nas ETEs, a água torna-se adequada para retornar a ambientes naturais e receptores hídricos, como reservatórios, lagos e rios, possibilitando sua captação para utilização da população. Como forma de avaliar a adequação do esgoto tratado o Conselho Nacional do Meio Ambiente (Conama), por meio da Resolução nº 430/2011, determina que o tratamento reduza, no mínimo, 60% da demanda bioquímica de oxigênio (DBO) na decomposição de matérias orgânicas. Nesse sentido, quanto menor a DBO, melhor a condição e qualidade da água [18].

De acordo com o Diagnóstico Temático publicado em 2022, apenas 55,8% dos brasileiros possuem o atendimento dos sistemas públicos de esgotamento sanitário. Em 35,7 % são utilizadas “soluções alternativas individuais como fossa séptica, fossa rudimentar, vala a céu aberto e lançamento em cursos d’água”. O mesmo documento apresenta que, em 2021, o volume de esgotos coletados chegou a 6,0 bilhões de m³ e o de esgoto tratado, equivalente a 4,9 bilhões de m³. Esse valor representa o atendimento de esgotamento sanitário a 40,3 milhões de economias residenciais ativas de esgoto.

O SNIS-AE realiza o cálculo de dois índices de tratamento de esgoto, sendo o tratamento em relação ao volume total gerado (IN046), e o tratamento em relação ao volume coletado (IN016). O primeiro relaciona-se com a abrangência das infraestruturas de coleta, e o segundo trata-se da capacidade efetiva do tratamento. Deste modo, mesmo o município coletando uma pequena quantidade de esgoto gerada pela população, pode alcançar uma alta porcentagem de tratamento.

De acordo com o SNIS-AE, no Brasil, apenas 51,2% do total de esgoto gerado é coletado (IN046), e deste, 80,8% são tratados (IN016). Destaca-se que existe uma variação expressiva entre as regiões brasileiras, para ambos os parâmetros, IN046 e IN016, respectivamente. Pode-se indicar que além da qualidade da água, o esgoto não tratado compromete o equilíbrio ambiental, e pode representar uma ameaça aos seres vivos aquáticos, e aos outros seres que se utilizam da água para sobrevivência. As bactérias que “decompõem a matéria orgânica dos efluentes em ambientes naturais demandam grandes quantidades de oxigênio dissolvido (OD) na água”, e diante disso, “a redução de oxigênio causa a morte de peixes e a proliferação de algas devido ao aumento de nutrientes” [15].

Conforme exposto acima, o desenvolvimento das estruturas de coleta e tratamento de esgotamento sanitário representa uma oportunidade de avanço social, permitindo que técnicas avançadas de monitoramento da qualidade da água possam contribuir para o crescimento sustentável da população.

A DQO e o carbono orgânico total (TOC) influenciam diretamente nas etapas de preparo de amostra. A quantidade de matéria orgânica ou carbono dissolvido presente pode impactar significativamente na eficácia da análise em relação à seletividade do método proposto. Em função das características físico-químicas dos analitos, é possível que ocorra a adsorção nesses componentes, por exemplo, materiais particulados presentes na amostra de lodo [4], [5], [19].

A presença de materiais particulados e a elevada carga de matéria orgânica podem interferir na seletividade do método, uma vez que essas partículas podem afetar a eficiência da extração dos analitos durante as etapas de preparo da amostra. Isso pode resultar em respostas analíticas imprecisas ou subestimadas, comprometendo a validade dos resultados.

1.2. Bisfenol A (BPA)

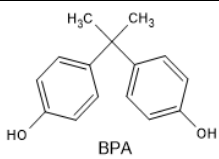
O Bisfenol A (BPA), também conhecido como 2,2-bis(4-hidroxifenil), é classificado como um dos contaminantes emergentes, sendo sua presença identificada em água, solo e atmosfera devido à exposição ambiental. A água é particularmente impactada, dado o amplo uso do BPA na indústria, especialmente como aditivo em embalagens plásticas e em outros derivados [20], [21], [22].

Polícarbonatos e resinas epóxi são os principais responsáveis pela crescente demanda por BPA, devido à sua aplicação na fabricação de brinquedos, mamadeiras, utensílios de cozinha, equipamentos médicos, selantes dentários e material de revestimento interno para recipientes de alimentos para evitar ferrugem e corrosão. Uma das preocupações da presença de BPA nos produtos, se deve a capacidade de lixiviação e migração dos recipientes de armazenamento para os alimentos/bebidas, causando contaminações. Quando armazenados sob diferentes condições, pH,

esterilização e altas temperaturas, esse processo pode ser acelerado e facilitado [23], [24].

A elevada utilização desse composto contribui para sua presença em amostras ambientais. Considerando o contato diário da maioria da população com produtos contendo BPA, a exposição humana a essa substância torna-se inevitável [7]. A Tabela 2 apresenta a estrutura e propriedade físico-química do BPA.

Tabela 2. Estrutura molecular e propriedades físico-químicas do BPA.

Estrutura molecular	
CAS	80-05-7
Massa Molar (g/mol)	228,3
pKa	9,59 - 11,30
Solubilidade em água (mg/L)	300

CAS: Chemical Abstract Service; pKa: constante de acidez.

Fonte: Elaborado pela autora

Os efeitos adversos do BPA abrangem tanto a vida terrestre quanto a aquática, principalmente o sistema reprodutor dos organismos, alterando o sistema imunológico, contribuindo para a obesidade, expressando mutagênese nas células eucarióticas e aumentando o risco de câncer de próstata e mama. Os mamíferos quando expostos a essa substância podem ter modificações na via esteroidogênica, afetando a expressão de alguns genes responsáveis pela codificação de proteínas. Nos peixes, a exposição aos plastificantes pode afetar a diferenciação sexual da espécie com tendência à feminilização [20], [22].

Devido a esses fatores, muitos países, incluindo a União Européia, América do Norte, Suécia, Noruega e a China, regulamentaram o uso de BPA em diversos produtos, incluindo mamadeiras e recipientes de armazenamento de alimentos. Já o Canadá, classificou o BPA como um “composto perigoso”,

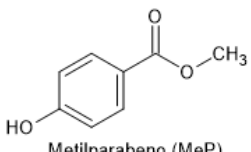
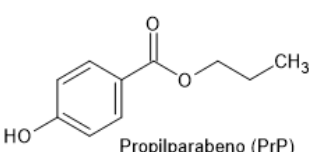
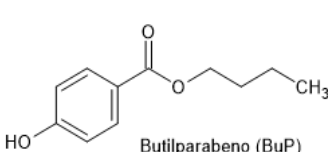
proibindo assim, a venda, importação e publicidade de produtos contendo o composto. Deste modo, a autoridade europeia para a segurança dos alimentos estabeleceu uma quantidade de 50 µg de BPA por dia como consumo total máximo [20].

1.3. Parabenos

Outro conjunto significativo de CEs é representado pelos parabenos. Estas substâncias químicas são compostas por para-hidróxi-ésteres do ácido benzóico, incorporando substituintes alquílicos, como grupos metil, etil, propil e butil, além do grupo benzil. Frequentemente empregados em produtos de cuidados pessoais (PCPs), os parabenos desempenham funções de conservantes e antimicrobianos. Apesar de serem biodegradáveis em condições aeróbias, o uso extensivo desses compostos resulta em sua contínua introdução no meio ambiente, caracterizando-os como "pseudo-persistentes" [25].

No presente projeto serão abordados apenas três parabenos comumente presente em amostras ambientais, como o MeP, PrP e BuP. As propriedades físico-químicas e estruturas moleculares desses elementos são apresentadas na Tabela 3.

Tabela 3. Estrutura molecular e propriedades físico-químicas dos parabenos.

Estrutura molecular	 Metilparabeno (MeP)	 Propilparabeno (PrP)	 Butilparabeno (BuP)
CAS	99-76-3	94-13-3	94-26-8
Massa Molar (g/mol)	152,2	180,2	194
pKa	8,31	8,23	8,17
Solubilidade em água (mg/L)	2500	500	207

CAS: Chemical Abstracts Service; pKa: constante de acidez.

Fonte: Elaborado pela autora

Segundo Yamamoto e colaboradores [26], números estudos *in vitro* e *in vivo* vêm sendo feitos relacionando os efeitos dos parabenos em mamíferos. Dentre eles destacam-se as atividades estrogênicas, que em roedores os efeitos incluem a diminuição do peso do feto, alterações de níveis hormonais relacionado a reprodução e da tireoide, em fêmeas. Já em organismos aquáticos a exposição a essas substâncias tem gerado respostas estrogênicas, como a indução à produção de vitelogenina (VTG), proteína presente somente em peixes fêmeas, e que estão sendo detectados em peixes machos, efeito semelhante ao observado para o BPA. Essa questão compromete o desenvolvimento das espécies, ocasionando problemas também na fase adulta [1], [3], [19].

Portanto, as técnicas analíticas são essenciais para a determinação e monitoramento dos compostos supracitados em amostras ambientais, bem como auxiliar no desenvolvimento de tecnologia para mitigação desses contaminantes. Dessa forma, é fundamental que o preparo de amostra aplicado na análise também não use solventes tóxicos. Com isso, é fundamental estudar novos solventes extratores, e sua aplicação em técnicas miniaturizadas de extração. Os HDES são considerados solventes ambientalmente amigáveis, e ainda pouco estudados em microtécnicas de preparo de amostras.

1.4. Solventes Eutéticos Profundos Hidrofóbicos (HDES)

As misturas eutéticas que utilizam sais têm sido empregadas ao longo do tempo com o objetivo de reduzir a temperatura dos sais fundidos, abrindo caminho para diversas aplicações. Um dos primeiros relatos sobre a combinação de sais de amônio quaternário com sais metálicos foi apresentado por Abbott [27]. Nesse contexto, essa mistura, conhecida como líquido iônico (IL), foi inicialmente caracterizada como um eutético profundo devido à formação de ânions complexos.

Para que um solvente eutético seja verdadeiramente considerado "profundo" e se diferencie significativamente de outras misturas eutéticas, os solventes eutéticos profundos devem ser definidos como uma mistura dos compostos puros para os quais a temperatura do ponto eutético seja inferior à

de uma mistura líquida ideal. A redução da temperatura de fusão do ponto eutético deve ser determinada pela diferença (ΔT_2) entre o ponto eutético ideal ($T_{E,ideal}$) e o ponto eutético real (T_E), e não simplesmente pela diferença (ΔT_1) entre a combinação linear dos pontos de fusão dos componentes puros e o ponto eutético observado [28].

Isso permite que o solvente permaneça líquido em condições ambientais normais, tornando-o adequado para várias aplicações, especialmente na área de química verde, em que se busca minimizar o uso de solventes tóxicos e promover práticas mais sustentáveis. Portanto, a profundidade eutética é uma característica que diferencia esses solventes eutéticos de outros líquidos convencionais.

Embora os líquidos iônicos (ILs) tenham sido amplamente utilizados no preparo de amostras, ao longo do tempo, eles foram gradativamente substituídos por novos solventes devido à sua toxicidade e custos elevados. Em 2003, foi relatado o desenvolvimento de uma nova classe de solventes denominados solventes eutéticos profundos (DES), os quais foram concebidos para aderir aos princípios da Química Analítica Verde, destacando-se pelo uso de precursores de baixa toxicidade [29], [30].

De modo geral, os DES possuem em sua composição a mistura de dois ou três precursores, que por sua vez realizam ligações de hidrogênio intermoleculares, envolvendo espécies doadoras (HBD) dessa ligação, e uma espécie receptora (HBA). Devido às ligações de hidrogênio e interações de van der Waals que se formam durante o processo, ocorre redução na temperatura de fusão da mistura em comparação com a temperatura de fusão dos componentes puros. Quando os DES são originados de fontes naturais recebem o nome de solventes eutéticos profundos naturais (NADES). Estes solventes apresentam vantagens devido a sua baixa toxicidade, biodegradabilidade e estabilidade, além da preparação simples e rápida [29], [31], [32], [33].

Os primeiros DESs registrados na literatura consistiam em combinações de amidas e cloreto de colina. O cloreto de colina (ChCl) destaca-se como um sal de amônio quaternário economicamente acessível, biodegradável e não tóxico, obtido a partir de fontes de biomassa. Quando combinado com doadores de ligações de hidrogênio, como ureia, ácidos carboxílicos renováveis (como oxálico, cítrico, succínico ou aminoácidos) ou polióis renováveis (como glicerol,

carboidratos). O ChCl demonstra a capacidade de formar rapidamente um DES [30], [32], [34].

A mistura entre o ChCl e os doadores de ligações de hidrogênio possibilita a formação do DES, apresentando propriedades líquidas à temperatura ambiente. Além disso, essa abordagem aproveita matérias-primas renováveis, promovendo uma alternativa sustentável em comparação com solventes tradicionais. Essa característica faz do DES uma opção em aplicações diversas, alinhando-se com os princípios da Química Analítica Verde devido, principalmente, à sua baixa toxicidade. Embora a maioria dos DES sejam produzidos a partir de ChCl como uma espécie iônica, os DES não podem ser considerados ILs, pois podem ser formados a partir de espécies não iônicas.[29], [34].

Diante da ampla variedade de produtos químicos abrangidos pelos EDCs, é importante que o solvente seja versátil, capaz de se adaptar aos diversos tipos de substâncias químicas a serem analisadas. Os DES representam uma classe singular de extratores, que podem ser caracterizados como sustentáveis, dependendo da natureza de seus precursores. Podem ser utilizados em diversas aplicações, incluindo catálise, síntese e eletroquímica. Essa versatilidade torna os DES uma escolha valiosa em contextos analíticos e em campos mais amplos da química, proporcionando uma abordagem sustentável e eficaz para diversas finalidades [3].

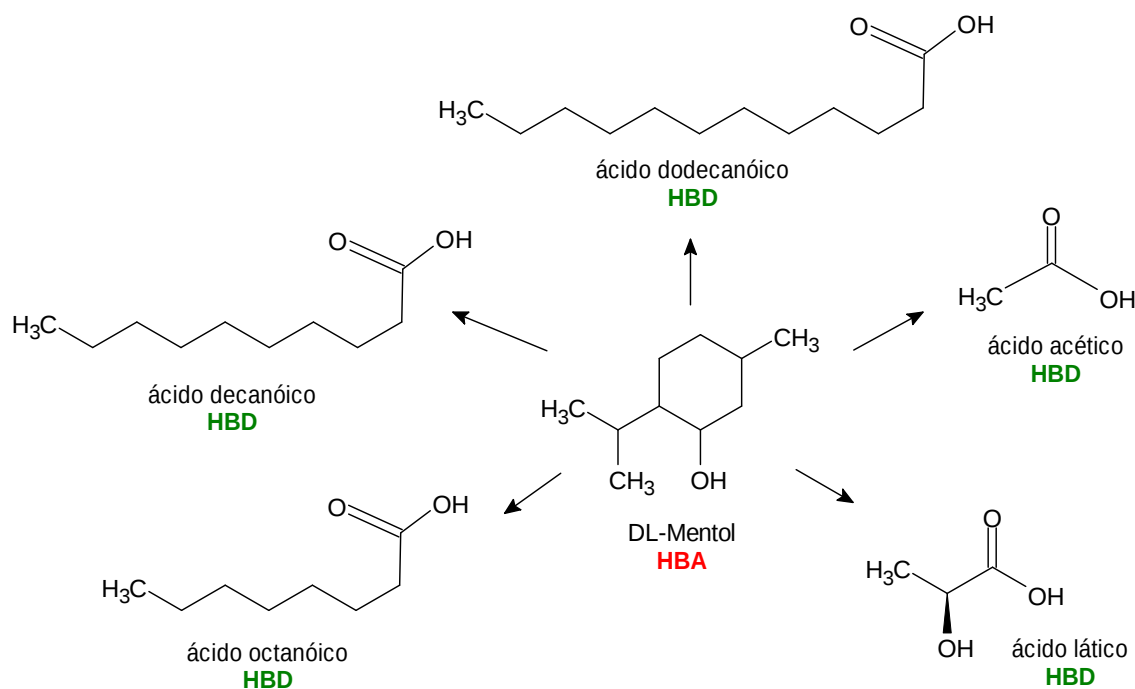
Os NADES e DES têm sido amplamente usados, mas seu uso é restrito para a extração de analitos hidrofílicos, dessa forma tornou-se necessário o desenvolvimento de solventes capazes de extrair compostos hidrofóbicos. No entanto, em 2015, DESs hidrofóbicos foram relatados pela primeira vez na literatura [30].

Os solventes eutéticos profundos hidrofóbicos (HDES) foram introduzidos inicialmente por Van Osh, constituindo um subgrupo dos solventes eutéticos profundos (DES) [9]. Similar aos DES, os HDES são predominantemente derivados de precursores naturais, o que os classifica como ambientalmente amigáveis. Entre as diversas combinações viáveis de precursores, o DL-mentol se destaca por ser de origem natural e apresentar baixa solubilidade em água. Dependendo do precursor, o DL-Mentol pode atuar como HBA ou HBD, apresentando uma dualidade de comportamento que pode ser manipulada

experimentalmente. As misturas eutéticas utilizando o DL-mentol, como a espécie HBA, surgem como alternativa para substituir precursores considerados tóxicos, e são amplamente estudados para aplicação no preparo de amostra.

Esse precursor, que é extraído de folhas das espécies de *Mentha sp.*, é abundante e relativamente barato quando comparado a outros precursores que exercem a mesma função, e, portanto, apresenta-se como uma opção vantajosa [33]. Na Figura 2 é apresentado algumas rotas de combinações do DL-mentol (HBA) com os ácidos orgânicos, como os ácidos decanóico (DecA), dodecanóico (DoDecA), octanóico (OctA), acético (AcA) e láctico (LaA), que atua como HBDs, para o preparo dos HDES [33], [35].

Figura 2. Combinações entre os precursores HBA e HBD para a formação dos HDES.



Fonte: Elaborado pela autora

Apesar de ser possível produzir os HDES por meio da combinação de vários precursores, este estudo abordou apenas três combinações específicas, correspondendo as misturas de DL-mentol:AcA, DL-mentol:DecA e DL-mentol:DoDecA.

As investigações acerca do uso dos HDES como extratores para compostos como BPA, MeP, PrP e BuP, utilizando a técnica Py-GC-MS para

análise em amostras de lodo, é uma área de pesquisa ainda pouco desenvolvida na literatura científica. Deste modo, este estudo oferece oportunidades para o avanço no entendimento sobre a eficácia desses solventes na extração de compostos específicos em contextos ambientais complexos, como o lodo. A aplicação desta abordagem inovadora pode contribuir significativamente para o desenvolvimento de métodos mais eficientes e sensíveis de análise de poluentes em amostras ambientais, fornecendo percepções valiosas para a gestão e monitoramento ambiental.

1.5. Caracterização dos HDES

A realização da caracterização dos HDES é crucial para o entendimento acerca da formação da mistura eutética, além de fornecer informações importantes sobre a estabilidade, tanto físico-química quanto termoanalítica. Para essa etapa, foram selecionadas técnicas como, espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), termogravimetria e análise térmica diferencial simultâneas (TG-DTA) e calorimetria exploratória diferencial (DSC), e análises físico-químicas, como densidade e viscosidade.

1.5.1 Infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

A técnica de Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR) desempenha um papel crucial na caracterização dos HDES, pois, possibilita evidenciar os primeiros indícios da formação desses solventes. A análise por FTIR torna-se fundamental ao detectar a presença de grupos funcionais específicos, proporcionando a identificação de diversas interações intermoleculares. Essa abordagem permite uma compreensão mais abrangente das propriedades dos HDES [30], [33].

Os HDES possuem a capacidade de formar ligações de hidrogênio e interações de van der Waals. Ao analisar os espectros desses solventes, é esperada a presença de bandas vibracionais de estiramento do grupo O—H (hidroxila) nos HDES, que representa as ligações de hidrogênio, que são

observadas na região do infravermelho próximo. Especificamente, a região em torno de $3000\text{--}3100\text{ cm}^{-1}$. A identificação dessas vibrações O—H é um indicativo significativo das características específicas de ligação presentes nos HDES, contribuindo para a elucidação da estrutura molecular e comportamento desses solventes eutéticos em diferentes contextos de aplicação [33], [36].

1.5.2 Análise térmica

A Termogravimetria (TG) fornece dados relativos à massa do solvente, durante seu aquecimento, para a avaliação de sua estabilidade térmica. Desta maneira, a técnica permite uma medida de massa da amostra como uma função da temperatura. Na análise termogravimétrica dinâmica, que foi utilizada neste trabalho, a amostra é aquecida a uma razão de aquecimento definida, seguindo preferencialmente uma razão linear [35].

A Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) é uma técnica na qual a diferença da razão do fluxo de calor, entre uma amostra e um material de referência, é medida como uma função de temperatura. É possível monitorar os efeitos que o calor, associados a mudanças físicas ou químicas na amostra, tais como alterações do estado físico (fusão, ebulição, sublimação, congelamento, inversões de estruturas cristalinas) ou reações de desidratação, dissociação, entre outras capazes de causar variações de calor, podem influenciar na composição e estrutura das moléculas estudadas [35].

Quando uma diferença de temperatura é observada entre a amostra de referência e a amostra de interesse, o sistema reage promovendo um fluxo de calor para compensar a diferença de temperatura, esse fluxo portanto é medido, e uma resposta quantitativa da quantidade de calor envolvida na reação, é obtida [35].

A Análise Térmica Diferencial (DTA) é uma técnica na qual a diferença entre a temperatura de referência (T_r) e da amostra (T_a), em função da temperatura ou do tempo, é medida [35].

1.5.3 Densidade e Viscosidade

A densidade (ρ) é um parâmetro importante nos processos de extração. Os HDES com densidades semelhantes à água, fazem com que o tempo da etapa de separação da amostra em duas fases durante a extração seja prolongado, além de dificultar a coleta da fase orgânica. Dependendo do tipo de método de preparo da amostra, HDES de menor ou maior densidade pode ser selecionado pelo analista, conforme sua necessidade [36].

A viscosidade, é definida como a propriedade físico-química que caracteriza a resistência de um fluido ao escoamento, e tem forte influência nos processos de extração, assim como a densidade. Ambos influenciam os fenômenos de transporte de massa, e podem afetar alguns tipos de aplicações.

Este fenômeno está relacionado ao processo de difusão, no qual os HDES alcançam um equilíbrio em relação à concentração dos analitos na amostra. Esse equilíbrio é crucial para garantir uma extração eficiente e completa dos analitos, pois implica na máxima transferência dos compostos de interesse da matriz complexa para o solvente extrator.

De modo geral, quanto mais elevada a proporção relativa de sal do HBD, maior será o efeito estruturante no líquido, ocasionando um menor volume livre, implicando em menores movimentos moleculares e, portanto, viscosidades mais altas [12]. O conceito de volume livre pode explicar os processos sobre a resistência à difusão em meios complexos [13].

Segundo Zhang et al. [14], a alta viscosidade dos HDES também pode ser atribuída à presença de uma extensa rede de ligações de hidrogênio entre os precursores, resultando em uma menor mobilidade de espécies livres dentro do HDES. A presença de um volume vazio muito pequeno da maioria dos HDES, e outras forças, como interações eletrostáticas ou de van der Waals, podem contribuir para a alta viscosidade dos solventes eutéticos.

1.6. Planejamento de Experimentos (DOE)

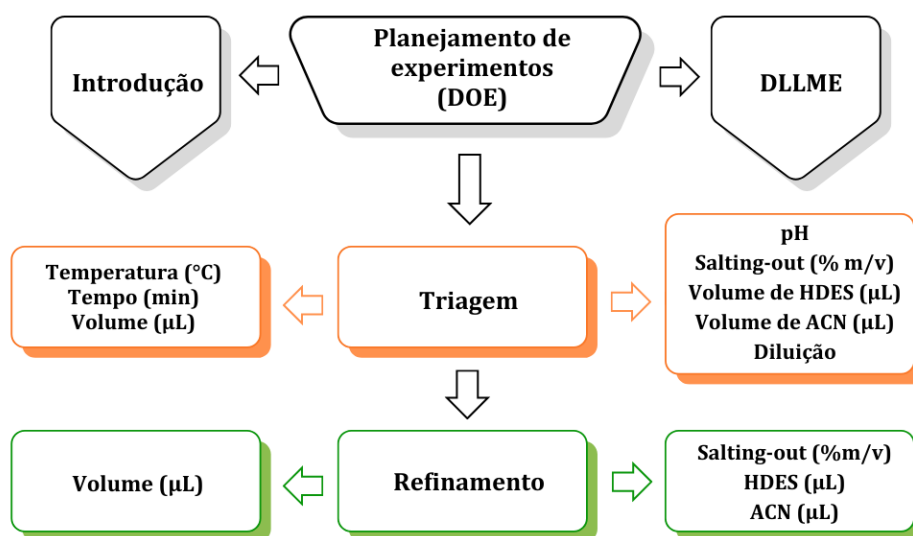
O Planejamento de Experimentos (DOE) é uma ferramenta quimiométrica amplamente usada na atualidade. Busca identificar, em várias áreas de pesquisa, as variáveis que exercem a maior influência no desempenho de um

processo específico, estabelecendo arbitrariamente os intervalos inferiores e superiores para essas variáveis [37].

Essa abordagem envolve a seleção de condições experimentais para avaliar o efeito de diferentes variáveis independentes sobre uma resposta específica. As etapas principais do planejamento de experimentos incluem 1) definição dos objetivos: Estabelecer claramente os objetivos do experimento e identificar a resposta ou variável de interesse; 2) identificação das variáveis; 3) seleção do tipo de planejamento; 4) atribuição de níveis e faixas; 5) geração da matriz de planejamento; 6) execução dos experimentos; 7) análise estatística; 8) otimização do processo [37], [38].

A utilização do DOE permite maximizar a eficiência dos estudos experimentais, economizando tempo e recursos. Ele oferece uma abordagem sistemática e estatística para a investigação de múltiplas variáveis, possibilitando a melhoria de processos e a otimização de resultados em diversas áreas [37], [39], [40]. Dessa forma, o uso dessa ferramenta, tornou-se um parâmetro importante para o desenvolvimento do método analítico, proposto neste trabalho. Dois planejamentos foram realizados pensando em uma melhor abordagem, investigando parâmetros influentes na introdução das amostras no Py-GC-MS, assim como as melhores condições para a DLLME, utilizando o HDES como agente extrator no preparo de amostras ambientais. A Figura 3 ilustra um esquema das variáveis selecionadas para os processos em questão.

Figura 3. Variáveis selecionadas para a triagem e refinamento dos experimentos.

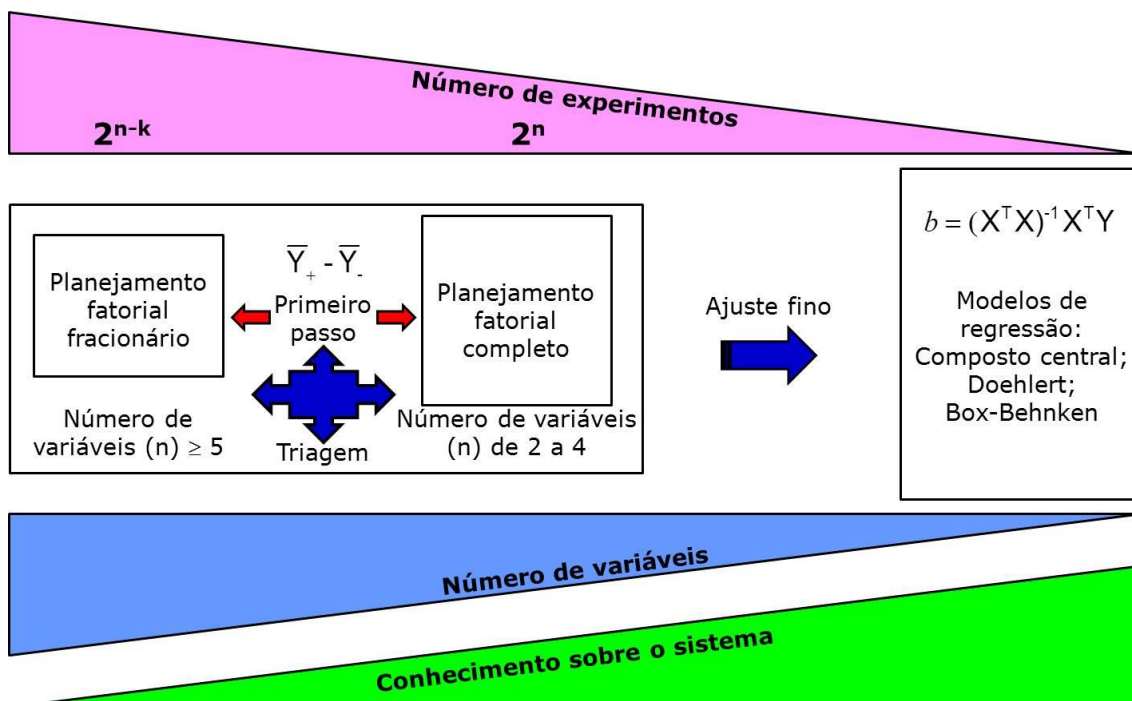


Fonte: Elaborado pela autora

Diversas pesquisas investigaram e analisaram a utilização do planejamento em diversos cenários, como na engenharia aerodinâmica, mecânica, eletroquímica, metabolômica, farmacêutica etc [38].

Uma das maiores vantagens de utilizar o planejamento fatorial é a redução significativa do tempo necessário para realizar experimentos e, conseqüentemente, do custo envolvido nesse processo. Ao estabelecer um planejamento experimental, é possível maximizar a informação obtida a partir de um número reduzido de ensaios, otimizando assim a eficiência do processo de tomada de decisão [37], [38]. Além disso, é possível verificar possíveis interações entre as variáveis influentes no processo. A Figura 4 apresenta os modelos de DOE, evidenciando sua associação com o número de variáveis empregadas nas otimizações. O processo inicia-se com a triagem das variáveis, seguido por uma etapa de refinamento [41].

Figura 4. Aplicação de modelos estatísticos empregados nas etapas de otimizações.



Fonte: Pereira Filho, E.R., **Planejamento Fatorial em Química: Maximizando a Obtenção de Resultados**, EdUFSCar, 2015.

A aplicação estatística representa alternativas para ultrapassar alguns obstáculos que podem surgir nos experimentos. Os modelos estabelecem uma

relação entre as variáveis e permite compreender o sistema como um todo, sendo seu principal objetivo obter o máximo de informações por meio de um número de experimentos reduzido [38]. O conceito de DOE não é recente, contudo, continua sendo muito utilizado em diferentes segmentos.

As ferramentas estatísticas, utilizadas na pesquisa científica se mostram importantes pela possibilidade de realizar uma triagem dos dados experimentais e selecionar quais são as variantes mais relevantes para o processo. Dentre os diferentes planejamentos experimentais existentes, o planejamento fatorial permite avaliar diversas variáveis simultaneamente a partir de ensaios experimentais menores. Este tipo de planejamento normalmente é representado por 2^k , no qual o número representa os dois níveis a serem trabalhados e k , os diferentes números de fatores.

O refinamento das análises pode ser realizado a partir da aplicação de outros modelos específicos. Em aplicações como matrizes aquáticas, os conceitos de DOE envolvem, principalmente, modelos como o planejamento composto central (CCD) e planejamento Box-Behnken (BBD) [38].

1.7. Microextração Líquido-Líquido Dispersiva (DLLME)

A etapa de preparo de amostras é fundamental no processo analítico, e continua a ser um dos desafios para alcançar resultados satisfatórios em relação à precisão e exatidão de um método. Com o objetivo de minimizar alguns obstáculos, outros métodos têm sido propostos para melhorar os processos de extração já existentes, como a extração líquido-líquido (LLE) [42].

A LLE é uma abordagem convencional amplamente utilizada nas etapas de preparo de amostras e pré-concentração de analitos. Seu uso resulta na partição dos analitos entre duas fases, uma orgânica e outra aquosa. Apesar da comprovada eficiência do método, é importante destacar algumas desvantagens associadas ao seu uso. Uma das limitações é o volume de solvente orgânico necessário para realizar a extração, que geralmente varia entre 100 e 150 mL de diclorometano, entre outros solventes orgânicos, como descrito em métodos oficiais. A separação entre a camada orgânica da fase aquosa ocorre durante um mínimo de 10 minutos, após a agitação do frasco [43].

Esses aspectos, relacionados ao volume substancial de solventes e ao período prolongado de espera, podem impactar a eficiência operacional e a praticidade do método em certos contextos. Portanto, embora o método seja eficaz em termos de desempenho analítico, é importante considerar essas desvantagens ao avaliar sua aplicabilidade em diferentes cenários laboratoriais ou ambientais [43].

Desse modo, outros métodos fundamentados em microextração têm surgido como opção ao uso de métodos clássicos de extração. As técnicas miniaturizadas tornam-se interessantes, pois é possível reduzir uso de solventes tóxicos, minimizar o volume de amostra necessário, aumentar a eficiência do processo de pré-concentração do analito e diminuir o custo [33].

A microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME), surge como uma alternativa para atender essas demandas, e possui vantagens quanto ao volume de solventes utilizados e o tempo de extração, quando comparada à LLE. Essa técnica consiste na dispersão de um solvente extrator (imiscível com água) e de um solvente dispersor (miscível em água e no solvente extrator) em solução aquosa [44]. A inclusão de um solvente dispersor na técnica tem como objetivo aumentar a área de contato efetiva entre a fase aquosa e o solvente extrator. Essa adição permite uma melhor interação entre os analitos presentes na amostra e o HDES, favorecendo a transferência eficiente dos analitos da matriz aquosa para o solvente extrator. A ampliação da área de contato facilita a difusão dos compostos de interesse, melhorando assim a eficácia do processo de extração. Esse aumento na superfície de interação contribui para uma extração mais completa e, conseqüentemente, para uma análise mais sensível e precisa dos componentes desejados [33], [45]. Os HDES utilizados como extratores demonstram uma ótima capacidade de extração de compostos orgânicos como pesticidas, álcoois, flavonóides, ácidos orgânicos e conservantes [11].

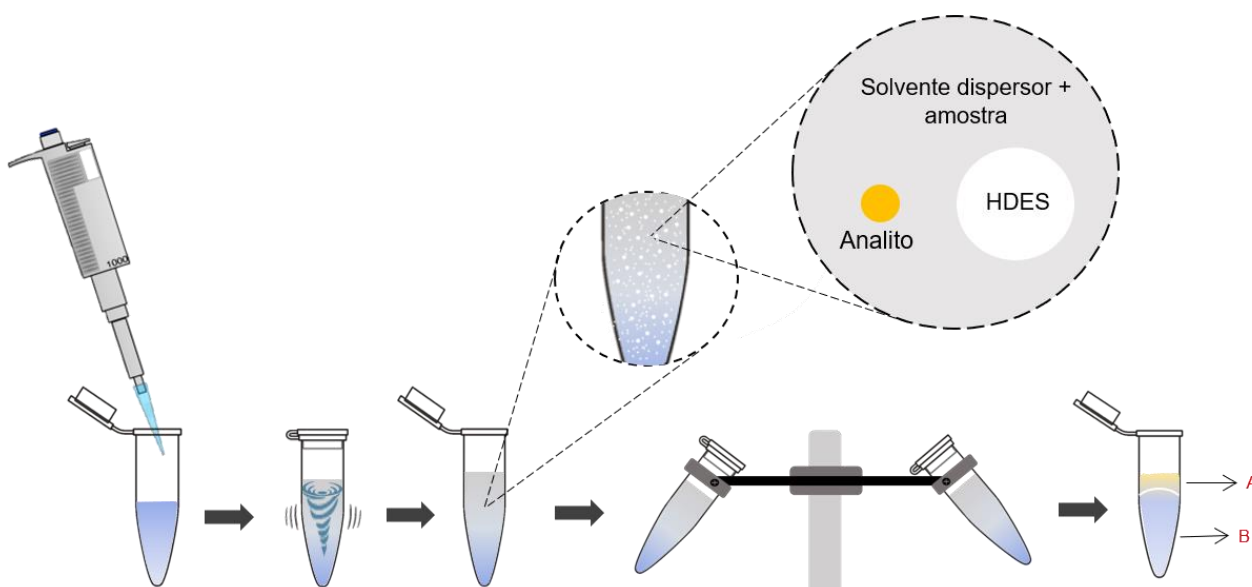
A extração por DLLME pode ser influenciada por alguns fatores, como o volume do solvente extrator e dispersor, tempo de extração, força iônica e pH. O volume de solvente extrator deve ser o menor possível, caso ele se encaixe na classe de solventes tóxicos [45]. Segundo Martins e colaboradores [42], a escolha pelo solvente extrator deve levar em consideração, principalmente, a sua densidade, a capacidade de extração dos analitos, e a compatibilidade com

a técnica analítica a ser usada. Já para o solvente dispersor, o parâmetro principal é sua solubilidade na fase orgânica e na aquosa.

Na Figura 5, estão ilustradas as etapas da DLLME, que consiste, primeiramente, na injeção da mistura entre o solvente extrator e o solvente dispersor na amostra de água fortificada com os analitos. A dispersão do solvente extrator em microgotas permite a retirada dos analitos da fase aquosa, permitindo que o equilíbrio entre a fase orgânica e a aquosa ocorra rapidamente devido à grande área superficial presente entre os solventes e a amostra aquosa. Em uma etapa posterior, ocorre a centrifugação da solução turva, sendo que a parte superior (fase orgânica), rica em HDES contendo os analitos, é recolhida e armazenada [46].

Para o início das análises cromatográficas, uma quantidade pré estabelecida da fase orgânica é diluída em acetonitrila (ACN). Esse processo é importante, pois reduz a contaminação do sistema cromatográfico e diminui efeitos memória na coluna cromatográfica, causado por solventes viscosos, como os HDES.

Figura 5. Etapas aplicadas na DLLME, sendo destacada a separação da fase orgânica (A) da fase aquosa (B).



Fonte: adaptado de Caldas et al., 2011, p. 1609.

1.8. Quantificação por Py-GC-MS

A cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS) pode ser aplicada como técnica para a separação de substâncias termicamente estáveis e volatilizáveis, devido as diferentes distribuições da substância entre a fase estacionária (líquida ou sólida) e a fase móvel (gasosa).

A cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas (Py-GC-MS) usando o pirolisador na etapa de introdução da amostra, pode ser usada para caracterizar muitos materiais, incluindo materiais insolúveis e materiais complexos em níveis muito baixos, que muitas vezes não recebem nenhum pré-tratamento. Portanto, algumas informações específicas de amostras que não podem ser obtidas por outras técnicas analíticas, tornam a Py-GC-MS essencial. Algumas deficiências na reprodutibilidade e baixas recuperações de compostos reativos, foram supridas a partir de um sistema baseado na técnica desenvolvida pelo professor Shin Tsuge da Universidade de Nagoya, na qual a amostra é colocada em um pequeno copo de aço inoxidável (eco-cup), que cai em queda livre em um micro-forno, permitindo uma variação da temperatura em uma razão de milissegundos.

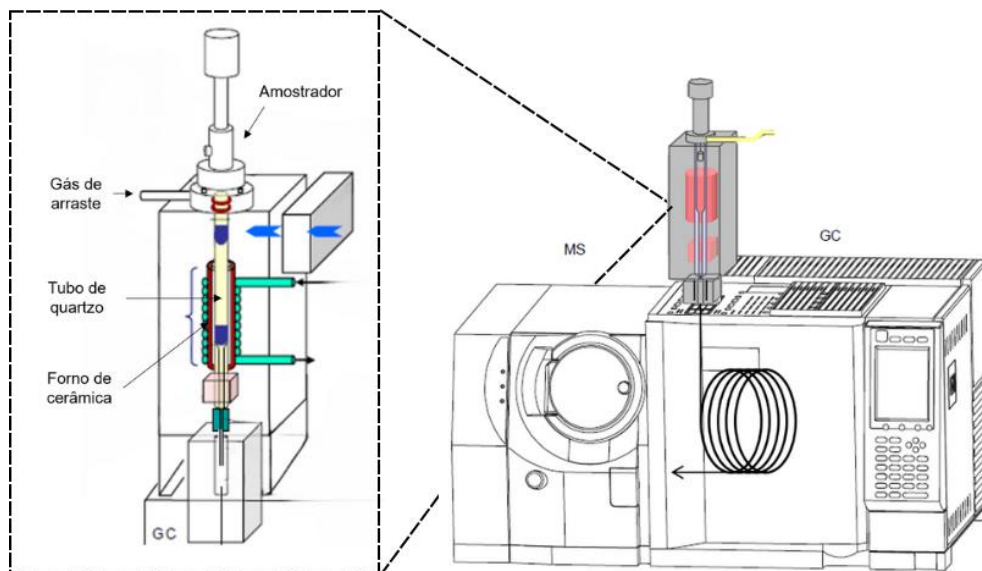
Portanto, o copo de aço é colocado em um suporte e a amostra, em uma pequena quantidade, é adicionada. O eco-cup é fixado na haste, e posteriormente acoplado no amostrador do pirolisador. Assim que o sistema do GC-MS estiver estabilizado, o eco-cup é liberado e cai em queda livre até o forno do pirolisador. Após a volatilização, a amostra é direcionada até a coluna de separação, sendo possível visualizar os componentes do sistema do pirolisador na Figura 6.

As colunas específicas para esse tipo de análise também são de extrema importância, sendo utilizadas colunas com capilares metálicos que possuem resistência à contaminação e maior estabilidade térmica, superior às colunas feitas com tubos de sílica fundida.

Após o processo de preparo de amostra o eluato recolhido é analisado usando Py-GC-MS. Com a técnica, a separação de substâncias termicamente estáveis e volatilizáveis ocorre por meio das diferentes distribuições da substância entre a fase estacionária (líquida ou sólida) e a fase móvel (gasosa) [22]. Além da amostra ser favorável para esse tipo de análise, o uso de

espectrometria de massas torna o ensaio ainda mais sensível, sendo necessária uma pequena quantidade da amostra para realizar o experimento.

Figura 6. Sistema de um pirolisador Multi-Shot EGA/PY-3030D.



Fonte: Adaptado de Frontier Laboratories

Inicialmente, o pirolisador foi desenvolvido com o propósito de estudo de compostos sólidos, como polímeros, contudo, a técnica ainda permite a injeção de amostras líquidas, desde que a maior parte do solvente seja volatilizado. Devido ao elevado coeficiente de expansão dos líquidos quando evaporados, pequenos volumes são indicados para a realização do ensaio. À vista disso, a etapa de secagem é importante para o processo e permite a preservação do sistema de análise como um todo, além de uma maior resolução da resposta analítica.

1.9. Parâmetros analíticos de mérito

Segundo a FDA, a validação de um método analítico é a etapa de confirmação de que um procedimento analítico é apropriado para atender aos objetivos propostos. Para a realização desse processo o método e os seus objetivos devem ser definidos antes da validação do método, e o entendimento desses aspectos deve ocorrer a partir do desenvolvimento e otimização de métodos com base científica. Os testes de validação propostos pela FDA incluem

os parâmetros de linearidade; exatidão; precisão (repetibilidade intra-dia e inter-dia); limite de quantificação (LOQ) e limite de detecção (LOD).

É expressa por meio da repetibilidade (operação feita pelo analista principal ou responsável), precisão intermediária (feito por outro analista em outro dia), ou reprodutibilidade (outro laboratório). Consoante a isso, deve ser demonstrada pela dispersão dos resultados, calculando-se o coeficiente de variação (CV%) da série de medições [47].

O fator de enriquecimento (EF) é um parâmetro utilizado para avaliar a eficiência de um método a partir da pré-concentração dos analitos em matrizes complexas, fortificados em baixas concentrações. O EF é frequentemente utilizado em técnicas analíticas, como a espectrometria de absorção atômica e cromatografia, avaliando a sensibilidade e seletividade do método desenvolvido [44].

A seletividade avaliou a capacidade de identificação inequívoca de um analito, mesmo estando presente em uma matriz com diversos compostos. A partir da análise cromatográfica é possível comprovar a pureza do sinal analítico quando comparado ao sinal do branco.

O LOD foi demonstrado pela obtenção da menor quantidade do analito presente em uma amostra que pode ser detectado, porém não necessariamente quantificado, tendo uma precisão definida de acordo com a diretiva ou guia de validação. Sua determinação pode ser realizada por meio da razão sinal-ruído, baseado na determinação do branco ou em parâmetros da curva analítica, considerando-se as particularidades do método analítico utilizado. Em casos de determinação usando a relação S/N, o valor do sinal do analito deve ser superior a 3 vezes o ruído para considerar que o analito foi detectado com precisão. O LOQ representa a menor quantidade do analito em uma amostra que pode ser determinada com precisão e exatidão recomendadas pelos guias ou diretivas de validação, sob as condições experimentais estabelecidas. Considerando a relação S/N, para o LOQ deve obter sinal superior a 10 vezes o ruído com precisão e exatidão determinado [47].

A linearidade tem como finalidade determinar se o método é capaz de obter respostas analíticas proporcionais ao aumento da concentração de um analito em uma amostra. A relação linear, de toda a faixa de trabalho estabelecida para o método, deve utilizar no mínimo 5 concentrações diferentes,

por meio de uma solução estoque feita com substância química de referência (SQR), em triplicatas independentes. Somente pelos dados da concentração e respostas analíticas individuais é que se pode realizar os cálculos estatísticos para avaliação da linearidade [47].

1.10. Aplicação da GREENness Analítica (AGREE)

O conceito mais difundido da “química verde” foi apresentado por Anastas nos anos 90 [48], no qual refere-se a abordagens e práticas na química que visam minimizar o impacto ambiental e reduzir o uso de substâncias perigosas. É essencial destacar que todas as substâncias e atividades têm algum impacto ambiental, mas a abordagem visa tornar a química o mais benigna possível [48].

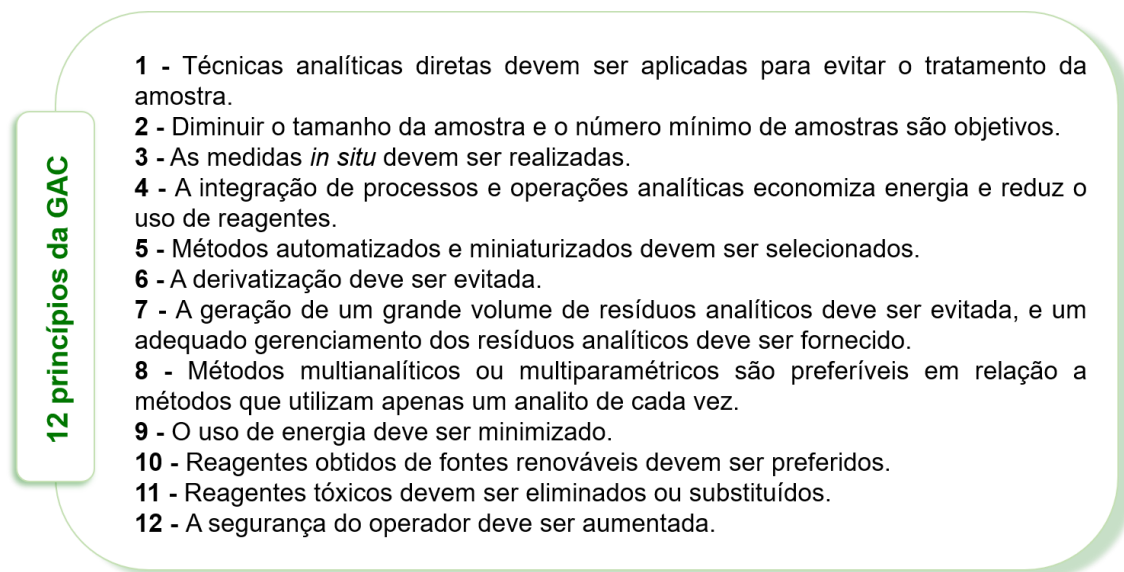
A química analítica tem desempenhado um papel central no movimento ambientalista desde a década de 1960. A capacidade de caracterizar e compreender o destino dos produtos químicos e de seus metabólitos no deslocamento em meios ambientais, só se tornou possível graças às técnicas modernas de química analítica. Essas metodologias avançadas permitem a detecção e quantificação precisa de substâncias químicas nos ambientes naturais [48].

A proposta da química analítica verde (GAC), foi introduzida em 1999 e se destacou como pioneiro em discussões acerca da necessidade de desenvolver uma abordagem analítica mais sustentável. Na química analítica, o foco está na aplicação desses princípios ao desenvolvimento de métodos de análise, desde a escolha dos reagentes até os processos analíticos propriamente ditos [48], [49]. Além disso incluem preocupações importantes com a segurança dos trabalhadores, a monitorização e a eficiência energética do processo [50]. Como a análise química é um processo que consiste em diversas etapas, é importante que haja a avaliação de cada processo e operações que compõem a metodologia analítica assegurando sua conformidade com os princípios da química verde [51].

Os 12 princípios da química verde foram originalmente projetados para atender às demandas da química sintética. No entanto, apenas alguns desses princípios podem ser diretamente aplicados à química analítica. Aqueles que

demonstram essa aplicabilidade tanto para propósitos sintéticos quanto analíticos incluem a 1) prevenção de resíduos (princípio número 1); 2) solventes e auxiliares mais seguros (princípio número 5); 3) eficiência energética (princípio número 6) e 4) redução da derivatização (princípio número 8) [51]. Na Figura 7 é possível observar todos os princípios implementados.

Figura 7. Abordagem dos 12 princípios da química analítica verde (GAC).



Para a GAC, a seleção do método mais verde, dentre todos os métodos, deve atender às necessidades do usuário. Portanto, cinco dos 12 princípios do GAC se referem ao método. As opções mais ecológicas são representadas por técnicas analíticas diretas, automatizadas e miniaturizadas, alinhando-se aos princípios 1, 3, 4 e 5 da química verde [51], [52].

A GAC é o conceito que faz com que os químicos analíticos considerem os problemas ambientais, de saúde e de segurança durante suas atividades. Os procedimentos analíticos verdes representam parâmetros complexos multivariados, difíceis de quantificar. Os sistemas métricos de química verde são comumente aplicados na síntese química, referindo-se à massa do produto, sendo essa abordagem não praticável na química analítica, na qual não existe um produto óbvio com uma massa específica. Portanto, torna-se evidente que a GAC demanda métricas específicas para avaliar o grau de sustentabilidade das metodologias analíticas [53], [54], [55].

Na literatura constam poucos métodos universais para avaliar o grau de sustentabilidade dos procedimentos analíticos. A primeira métrica desenvolvida para a GAC foi a abordagem do índice nacional de métodos ambientais (NEMI). A rotulagem NEMI, expressa informações acerca das propriedades perigosas ou corrosivas dos resíduos gerados, e suas quantidades, no formato de pictograma. Contudo, a avaliação do método por essa métrica pode resultar em respostas apenas qualitativa [54].

Outras métricas foram elaboradas para atender de forma mais abrangente aos requisitos estabelecidos para os métodos analíticos. Até então, nenhum dos sistemas métricos desenvolvidos avaliava adequadamente os procedimentos analíticos, levando em consideração cada um dos 12 princípios do GAC. Entre essas medidas, destaca-se o GREEnness Analitica (AGREE), um sistema métrico destinado a avaliar os aspectos ecológicos dos procedimentos analíticos com base nos princípios fundamentais. Essa métrica é considerada completa devido à incorporação dos 12 princípios, flexível pela possibilidade de atribuir pesos a cada princípio, de fácil interpretação ao resultar em um pictograma colorido que evidencia a estrutura dos pontos fortes e fracos [55].

O sistema métrico para a avaliação deve ser caracterizado por vários recursos, como a 1) abrangência de entrada, no qual devem se referir aos requisitos de material (qualidade e quantidade), geração de resíduos, consumo de energia, segurança do analista e a abordagem geral do procedimento analítico, como o número de etapas de pré-tratamento; 2) flexibilidade de importância de entrada, no qual a atribuição pesos aos critérios com base em sua importância em um determinado cenário é altamente desejável; 3) simplicidade de saída, sendo que a interpretação dos resultados seja de fácil interpretação; 4) clareza de saída, permitindo que o usuário leia as informações sobre o mau ou bom desempenho do procedimento em cada critério de avaliação [54], [55].

No AGREE, os critérios de entrada são vinculados aos 12 princípios, sendo cada um deles convertido para uma escala comum variando de 0 a 1. O resultado da avaliação final é obtido a partir as avaliações de cada princípio. A saída é apresentada por meio de um gráfico em formato de relógio, exibindo a pontuação geral e o desempenho do procedimento em cada princípio a partir de uma escala de cores, vermelho-amarelo-verde, no centro [55].

Em vista do exposto, é importante destacar que a busca por novos solventes extratores tem sido um tópico relevante para inovar no preparo de amostras. Cabe destacar que os HDES ainda são pouco utilizados em técnicas de separação, principalmente, em cromatografia gasosa tendo a introdução da amostra usando um pirolisador.

2. OBJETIVOS

O objetivo principal deste estudo foi preparar, caracterizar e aplicar os HDES no preparo de amostras de lodo usando a DLLME para quantificar MeP, PrP, BuP e BPA usando a cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas, tendo o pirolisador como sistema de introdução da amostra.

2.1 Objetivos específicos

Além disso, buscou-se aprimorar a etapa de preparo e a DLLME por meio de um planejamento fatorial, validar o método analítico conforme as diretrizes internacionais e aplicar métricas verdes para avaliação do grau de sustentabilidade dos procedimentos analíticos do método proposto.

3. MATERIAL E MÉTODO

3.1. Materiais

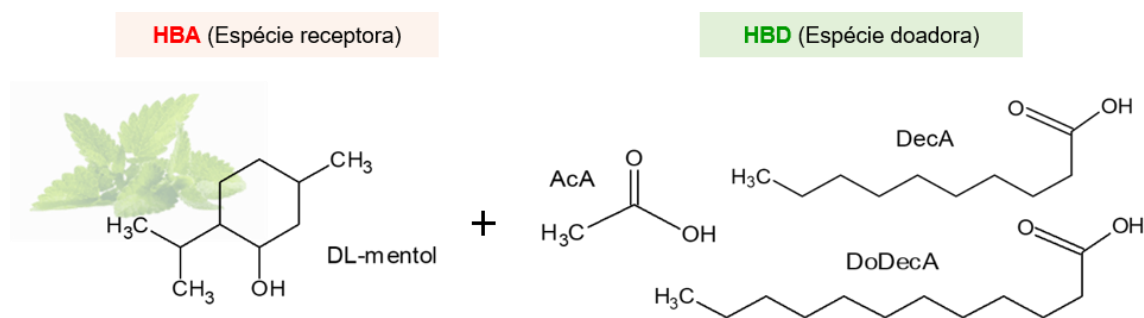
No preparo dos HDES foram utilizados DL-Mentol (Sigma-Aldrich, pureza $\geq 98\%$); ácido decanóico (Sigma-Aldrich, pureza $\geq 98\%$); ácido dodecanóico (Biosynth, pureza $\geq 98\%$); ácido acético (Sigma-Aldrich, pureza $\geq 99,7\%$). Os analitos utilizados na fortificação da amostra foram o metilparabeno (Sigma-Aldrich, pureza $\geq 98\%$); propilparabeno (Sigma-Aldrich, pureza $\geq 98\%$); butilparabeno (Sigma-Aldrich, pureza $\geq 98\%$); bisfenol A (Sigma-Aldrich, pureza $\geq 98\%$). A amostra utilizada foi de lodo doméstico foi cedida por uma indústria de materiais para escritório do estado de São Paulo, Brasil.

3.2. Preparo dos HDES

O DL-mentol foi utilizado como HBA em todas as misturas contendo os diferentes HBDs (ácido acético, ácido decanóico e ácido dodecanóico,

respectivamente denominados de AcA, DecA e DoDecA). Na Figura 8, estão representadas as estruturas desses compostos.

Figura 8. Estruturas moleculares do HBA e dos HBDs utilizados na produção dos HDES.



Fonte: Elaborado pela autora

A produção dos HDES foi feita utilizando uma mistura dos dois precursores (HBA e HBD), baseados nos processos descritos por Ribeiro, Dwamena e Caldeirão [30], [31], [33], no qual foi utilizada a etapa de agitação a 60 rpm com aquecimento de 60 °C, por 25 minutos, como mostrado na Figura 9. As propriedades físico-químicas dos precursores utilizados no trabalho, estão descritos na Tabela 4, assim como a massa dos precursores foi medida de acordo com as razões molares presentes na literatura [30], [33], [56], sendo descritas na Tabela 5.

Figura 9. Mistura dos precursores para a produção dos HDESS a) DL-mentol:AcA b) DL-mentol:DecA c) DL-mentol:DoDecA



Fonte: Acervo pessoal

Tabela 4. Propriedades físico-químicas dos precursores usados no preparo dos HDES e razões molares dos precursores e a massa real utilizada no processo de produção dos HDES.

Precursores	Massa molar (g/mol)	Temperatura de fusão/congelamento (°C)	Solubilidade em água (g/L a 25 °C)
DL-mentol	156,3	34 - 36	0,456
DecA	172,3	27 - 32	0,0618
DoDecA	200,3	44 - 46	0,0580
AcA	60,05	16,2	603

Tabela 5. Razões molares dos precursores e a massa real utilizada no processo de produção dos HDES.

Combinações		Razão molar	Massa (g)
DL-mentol	DecA	1:1	5,00 : 5,50
	DoDecA	2:1	5,00 : 3,19
	AcA	1:1	5,00 : 1,92

3.3. Avaliação dos parâmetros físico-químicos dos HDES

As medidas de densidade (ρ) dos HDES foram realizadas utilizando um picnômetro (5,00 mL), calibrado com água Mili-Q a 25°C durante 30 minutos, para a estabilização da temperatura do sistema, e uma balança analítica. A calibração determinou o volume real do picnômetro para que, posteriormente, fosse realizada a análise com o solvente eutético.

A medida de viscosidade foi obtida utilizando um viscosímetro vibracional automático (SV-10 A&D Company), de precisão $\pm 3\%$ (1 to 1000 mPa·s), com frequência de vibração de 30 Hz a uma temperatura de 25°C.

O estudo de estabilidade do HDES foi realizado utilizando também os parâmetros de densidade e viscosidade, durante o período de um ano. Para a mistura DL-mentol:AcA, as coletas de dados foram feitas durante 20 semanas seguidas, e depois, durante uma vez ao mês durante 8 meses até que se completasse um ano.

3.4. Infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

O FTIR permite a verificação dos grupos funcionais, além da interação entre os precursores. Trata-se de uma das análises que fornece informações sobre as interações dos compostos constituintes da amostra, por meio da análise de uma faixa espectral de 4000 a 400 cm^{-1} , com resolução de 4 cm^{-1} e 64 scans (VERTEX 70, BRUKER), incluindo um detector DLaTGS, em temperatura ambiente.

3.5. Análise termooanalítica

As medidas de ponto de fusão de cada HDES e de seus precursores foram determinadas utilizando a técnica de Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) (Mettler-Toledo). No DSC foi adicionado, aproximadamente, 8 mg de amostra em cadinhos de alumínio com tampa de capacidade de 40 μL . As condições de análise envolveram resfriamento e aquecimento em um intervalo de -40 a 60 $^{\circ}\text{C}$ a uma taxa de 5 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$ em fluxo de N_2 a 50 mL min^{-1} .

As principais etapas de perda de massa foram avaliadas utilizando a análise termogravimétrica (TG) em conjunto à técnica de análise térmica diferencial (DTA) (TG/DTA modelo SDT 2960, TA Instruments), em atmosfera de ar seco com fluxo de 50 mL min^{-1} , aquecidas em uma faixa de temperatura de 30 a 800 $^{\circ}\text{C}$ com razão de aquecimento a 10 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$. Os HDES foram adicionados em cadinhos de $\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$ com volume de 90 μL .

Para a análise dos gases desprendidos (EGA), foi utilizado um TG/DSC (Mettler Toledo) acoplado ao FTIR (Nicolet IS10), com componente para análise de gases aquecidos a 175 $^{\circ}\text{C}$. Os HDES foram adicionados em cadinhos de $\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$ com capacidade de 70 μL , sendo a razão de aquecimento de 10 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$, em atmosfera de ar seco com fluxo de 50 mL min^{-1} . Os gases liberados na primeira etapa foram transferidos até o acessório de análise de gás através de uma linha de transferência de aço inoxidável de 3 mm de diâmetro aquecida a 150 $^{\circ}\text{C}$. Para a análise por FTIR foram realizadas 16 varreduras por espectro com resolução de 4 cm^{-1} .

3.6. Caracterização físico-química da amostra de lodo

Os parâmetros utilizados para a caracterização complementar do lodo, foram o pH, utilizando pHmetro (Meter Tec-2, Tecnal), condutividade utilizando um S30 SevenEasy conductivity (Mettler Toledo) e a determinação de demanda química de oxigênio (DQO) e Carbono orgânico total (TOC).

3.7. Microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME)

Na primeira etapa da DLLME, ocorreu a combinação entre 300 µL de solvente extrator (HDES) e 350 µL de solvente dispersor (ACN). Em seguida, essa mistura foi adicionada a um tubo falcon contendo 4 mL de amostra de lodo filtrado, previamente fortificada com metilparabeno, propilparabeno, butilparabeno e bisfenol A, cada um em concentrações de 3,00 mg L⁻¹ para a etapa do planejamento fatorial. Posteriormente, na fase de validação do método, as concentrações utilizadas variaram de 0,083 mg L⁻¹ a 1,00 mg L⁻¹.

Após esse processo o tubo foi agitado utilizando um vórtex por 20 segundos. Nessa etapa, foi observado o surgimento da dispersão do solvente extrator em microgotas na fase aquosa decorrente da ação do solvente dispersor. O sistema foi levado à centrífuga com resfriamento a 25 °C a 8000 rpm durante 20 minutos, no qual ocorreu equilíbrio entre a fase orgânica, rica em HDES, e a fase aquosa. Uma quantidade de 20 µL da fase orgânica foi recolhida e diluída em 50 µL de acetonitrila (ACN), para posterior determinação dos analitos por Py-GC/MS.

3.8. Cromatografia gasosa de pirólise acoplada ao espectrômetro de massas (Py-GC-MS)

As análises foram realizadas utilizando o pirolisador (EGA/PY-3030D, Frontier Laboratories, Japão), a temperatura do forno de cerâmica foi programada para 320 °C com permanência de 0,5 minutos. A separação cromatográfica foi realizada empregando uma coluna de capilar metálico revestida com 5% diphenyldimetyl polysiloxane (Ultra ALLOY®-Frontier Laboratories), utilizando como gás de arraste o hélio (99,99%).

O pirolisador foi acoplado a um cromatógrafo gasoso (GC-2010 plus, Shimadzu) equipado com um detector de espectrometria de massas (GCMS-

QP2020, Shimadzu). no qual foi operado a uma temperatura de 40 °C durante 1 minuto, aquecendo até 250 °C a 30 °C min⁻¹ por 4 minutos, e depois para 320 °C a uma taxa de 40 °C min⁻¹, mantendo por 4 min. Para a ionização de elétrons (EI), o espectrômetro de massas foi operado a uma temperatura de 230 °C na câmara de íons e 320 °C na interface do detector. A análise no modo SCAN, foi realizada em um intervalo de 50 a 300 *m/z*, e os compostos foram identificados a partir da biblioteca NIST e utilização da biblioteca presente no software do equipamento. Os tempos de retenção foram obtidos experimentalmente pela injeção dos padrões.

O modo SIM foi realizado a partir da seleção dos íons específicos de cada analito no modo SCAN em conjunto com os dados presentes na literatura.

3.9. Planejamento de experimentos (DOE)

Neste trabalho, o DOE foi realizado primeiramente utilizando um modelo exploratório, em que se optou pelo planejamento fatorial completo para as condições de injeção e o planejamento fatorial fracionário para as otimizações da DLLME. Na Tabela 6 e 7, apresentam-se as variáveis e os níveis utilizados para a realização dessa etapa. Um planejamento de refinamento foi realizado para o estudo de injeção, no qual foi escolhido a otimização univariada e, posteriormente, foi realizado um ajuste fino das melhores condições da primeira etapa para a DLLME, fazendo uso de modelos de regressão como o composto central, descrito na Tabela 8 [37].

Tabela 6. Variáveis escolhidas para um DOE completo para avaliar os parâmetros significativos na etapa de injeção da amostra.

Experimentos	Temperatura (°C)	Tempo (min)	Volume (µL)
1	320	0,5	10
2	240	0,5	10
3	320	0,5	5
4	240	1,0	5
5	240	0,5	5
6	320	1,0	10
7	240	1,0	10
8	320	1,0	5

Tabela 7. Variáveis escolhidas para um DOE fracionário para avaliar os parâmetros significativos na etapa da DLLME.

Experimentos	pH	Salting-out (% m/v)	Volume de HDES (μL)	Volume de ACN (μL)	Diluição
1	2	5	300	300	50
2	10	5	300	300	2
3	2	30	300	300	2
4	10	30	300	300	50
5	2	5	600	300	2
6	10	5	600	300	50
7	2	30	600	300	50
8	10	30	600	300	2
9	2	5	300	600	2
10	10	5	300	600	50
11	2	30	300	600	50
12	10	30	300	600	2
13	2	5	600	600	50
14	10	5	600	600	2
15	2	30	600	600	2
16	10	30	600	600	50

Tabela 8. Planejamento Composto Central (CCD), utilizado como parâmetro de refinamento das variáveis significativas obtidas na etapa exploratória.

Experimentos	Salting-out (%m/v)	HDES (μL)	ACN (μL)
1	25	250	300
2	25	250	400
3	25	350	300
4	25	350	400
5	30	250	300
6	30	250	400
7	30	350	300
8	30	350	400
9	23	300	350
10	32	300	350
11	27,5	216	350
12	27,5	384	350
13	27,5	300	266
14	27,5	300	434
15	27,5	300	350
16	27,5	300	350
17	27,5	300	350

3.10. Avaliação das figuras de mérito

A validação do método proposto foi realizada baseando-se nas diretrizes de órgãos regulamentadores como o INMETRO, FDA e ANVISA [47], [57], [58].

A precisão do método foi medida a partir da repetitividade, que utiliza as mesmas condições de operação (equipamento, analista, reagentes e mesmas condições ambientais). Foram realizados nove experimentos em diferentes níveis de concentração (3 repetições em concentração baixa, 3 repetições em concentração média e 3 repetições em concentração alta) [58], [59]. A seletividade avaliou a capacidade de identificação ou quantificação do analito, a partir da análise cromatográfica visual do método proposto em amostra em comparação com o sinal analítico do branco. O limite de detecção (LOD) e o limite de quantificação (LOQ) foram determinados por meio da razão sinal-ruído, sendo que os valores de referência para o LOD devem ser no mínimo 3, e o LOQ deve ter sua razão de no mínimo 10. Para a obtenção da linearidade foram feitas soluções com diferentes concentrações, no mínimo 5 pontos, para avaliar a capacidade de se obter respostas analíticas proporcionais à concentração dos analitos.

A recuperação percentual (Rec %) foi analisada para determinar os valores dos parâmetros de pré-concentração dos analitos na matriz estudada, os experimentos foram realizados em triplicata [43], [60], [61]. Primeiramente, a DLLME foi realizada sem a adição dos analitos à amostra. O eluato resultante foi fortificado (B) com concentrações de 415 µg L⁻¹ de MeP e 830 µg L⁻¹ de PrP, BuP e BPA. Em seguida, a amostra foi fortificada (C) nas mesmas condições mencionadas anteriormente, e uma nova etapa de DLLME foi realizada, na qual o eluato também foi recolhido e analisado [62]. Os resultados obtidos em relação a área, foram aplicados na equação abaixo.

$$Rec (\%) = \frac{C}{B} \times 100 \quad (1)$$

A avaliação da eficiência do processo (EP) foi realizada a partir da comparação das áreas resultantes da injeção dos analitos em solvente (A) com as áreas de pico dos padrões enriquecidos antes da extração (C). As

concentrações empregadas foram de 415 µg L⁻¹ para MeP e 830 µg L⁻¹ para PrP, BuP e BPA. Os resultados foram então inseridos na equação abaixo [62].

$$PE(\%) = \frac{C}{A} \times 100 \quad (2)$$

O coeficiente de variação (CV) foi utilizado para avaliar a variabilidade relativa de um conjunto de dados em relação à média, foi calculado como a razão entre o desvio padrão (s) e a média (M). O CV é dado pela seguinte equação [59].

$$CV(\%) = \frac{s}{M} \times 100 \quad (3)$$

3.11. Aplicação das métricas verdes para o método desenvolvido e o preparo de amostra

Com base no sistema métrico AGREE, cada uma das 12 variáveis de entrada foi avaliada em uma escala comum variando de 0 a 1 [55]. O resultado da avaliação final foi representado por meio da criação de um gráfico semelhante a um relógio, apresentando uma escala de cores que vai do vermelho ao amarelo e ao verde. Os cálculos foram realizados pelo software “Analytical Greenness Calculator”, disponibilizado por Pena-Pereira e colaboradores [55]. As entradas utilizadas para a avaliação do método e preparo de amostra estão descritas na Tabela 9.

Tabela 9. Informações de entrada para avaliação do método e preparo de amostra inseridas no software.

Método		Preparo de amostra	
Princípios	Informações adicionadas	Princípios	Informações adicionadas
1	At-line	1	At-line
2	0,0200 mL	2	4,00 mL
3	At-line	3	At-line
5	Semi automático Miniaturizado	4	3 etapas utilizadas
8	Analitos analisados: 4 Análises por hora: 5	5	Automático Miniaturizado
9	GC-MS (> 1,5 kWh)	7	4,3 mL

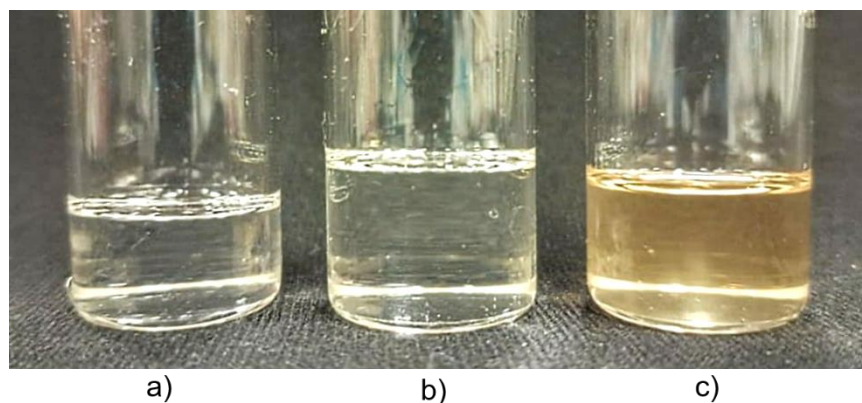
10	Alguns reagentes são derivados de fontes renováveis	10	Alguns reagentes são derivados de fontes renováveis
11	Não (total volatilização)	11	0,300 mL
12	Contato com compostos bioacumulativos	12	Tóxicos para vida aquática

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1. Preparo dos solventes eutéticos profundos hidrofóbicos (HDES)

Após a etapa de produção do HDES, o sistema foi resfriado à temperatura ambiente, no qual foi possível observar a formação de líquidos transparentes. Essa característica apresenta-se como um dos primeiros indícios da formação do HDES, como apresentado na Figura 10 [33], [56]. Os volumes finais de cada HDES produzidos foram de aproximadamente 12,25 mL (DL-mentol:DecA), 10,75 mL (DL-mentol:DoDecA), 8,00 mL (DL-mentol:AcA). Apenas mistura contendo o DoDecA, apresentou uma coloração amarela proveniente da cor característica do precursor.

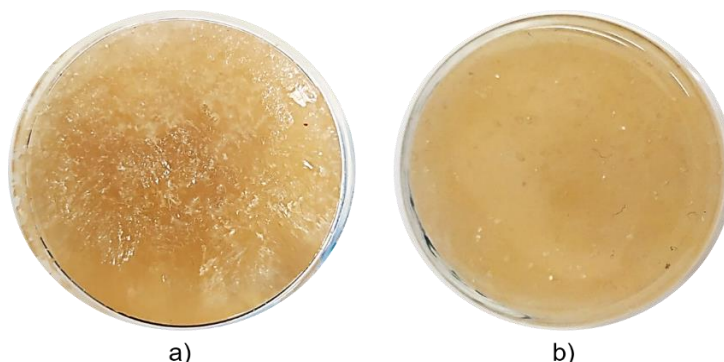
Figura 10. Foto obtida após o preparo dos HDES a) DL- mentol:AcA (1:1) b) DL- mentol:DecA (1:1) c) DL- mentol:DoDecA (2:1).



Fonte: Acervo pessoal

Outras proporções molares foram testadas para a mistura DL-mentol:DoDecA, contudo, não houve a formação de fase líquida à temperatura ambiente em nenhum dos casos. Na Figura 11, é possível observar os resultados dos experimentos realizados

Figura 11. Foto obtida após a mistura de DL-mentol:DoDecA em diferentes razões molares a) 1:2 b) 1:1.



Fonte: Acervo pessoal

A temperatura adequada para o manuseio desses solventes deve situar-se em torno de 45 °C. No entanto, este valor se mostra inadequado, uma vez que, conforme indicado por Dwamena [30], a formação dos HDES ocorre quando há a formação de uma mistura em estado líquido, em temperatura ambiente. Com isso, testes posteriores para avaliar a possível formação desses solventes eutéticos, não foram realizados. Foram testadas outras razões molares para o DL-mentol:AcA e DL-mentol:DecA, as quais apresentaram características preliminares da formação da mistura eutética. Além disso, os HDES foram caracterizados por FTIR.

4.2. Caracterizações dos HDES

4.2.1. Avaliação da viscosidade e densidade do HDESSs

A primeiras caracterizações realizados foram de viscosidade (η), densidade (ρ), apresentadas na Tabela 9. É possível observar os primeiros valores obtidos para cada solvente, após um dia do seu preparo. A avaliação desses parâmetros desempenha uma função importante para a etapa de preparo de amostra, e podem ser modificadas de acordo com os métodos analíticos propostos [63], [64].

Para todos os HDES, os valores de densidade obtidos foram inferiores ao da água, que corresponde a 0,997 g cm⁻³. Diferentes solventes eutéticos podem

apresentar valores maiores de densidade, o que implica no recolhimento da fase orgânica na parte inferior do sistema. Embora os dados obtidos colaborem com a etapa de separação entre a fase orgânica e aquosa, uma das desvantagens de apresentarem valores de densidade relativamente próximos ao da água está relacionado com o tempo de separação entre as duas fases durante a extração [63]. Contudo, dependendo do tipo de método utilizado é preferível que os HDES apresentem valores baixos ou mais elevados do que o da água. Os valores de densidade mudam de acordo com a natureza e razão molar dos constituintes dos HDES [64]. Uma das maneiras para acelerar o processo de partição entre as fases, realizada neste trabalho, foi a utilização da etapa de centrifugação na DLLME.

A viscosidade também apresenta efeitos significativos no processo de extração. Muitos HDES relatados na literatura apresentam viscosidades elevadas quando comparados com a água, próximos a 100 mPa.s em temperatura ambiente. Os HDES utilizados neste trabalho apresentaram valores foram inferiores, quando comparados aos descritos na literatura. A aplicação de HDES com valores de viscosidade considerados elevados ou baixos, em relação à água, devem ser escolhidos levando em consideração a adequação do método aplicado. Contudo, quando os HDES são utilizados como extratores, valores mais baixos de viscosidade são indicados, devido a facilidade de dispersão no meio aquoso, que pode ainda ser mais favorecida pela ação do solvente dispersor, por exemplo [63].

De modo geral, quanto mais elevada a proporção do HBD no preparo, maior será o efeito estruturante no líquido, ocasionando um menor volume livre, implicando em menores movimentos moleculares e, portanto, viscosidades mais altas [64]. O conceito de volume livre pode explicar os processos sobre a resistência à difusão em meios complexos [36]. Segundo Zhang [65], a alta viscosidade dos HDES também pode ser atribuída à presença de uma extensa rede de ligações de hidrogênio entre os precursores, resultando em uma menor mobilidade de espécies livres dentro do HDES. A presença de um volume vazio muito pequeno da maioria dos HDES, e outras forças, como interações eletrostáticas ou de van der Waals, podem contribuir para a alta viscosidade dos solventes eutéticos.

O estudo de estabilidade do HDES, durante o período de um ano, pode ser observado na Tabela 10.

Tabela 10. Avaliação da estabilidade do HDES (DL-mentol:AcA) em relação a sua viscosidade e densidade após um ano do seu preparo.

	Período	Viscosidade (mPa.s)	Densidade (g cm ⁻¹)
DL-mentol:AcA (Semanas)	1	7,79	0,928
	2	7,82	0,926
	3	7,85	0,927
	4	7,35	0,927
	5	7,31	0,928
	6	7,56	0,928
	7	7,43	0,928
	8	7,28	0,928
	9	7,64	0,927
	10	7,37	0,927
	11	7,47	0,929
	12	7,64	0,924
	13	7,52	0,916
	14	7,65	0,923
	15	7,36	0,920
	16	7,81	0,921
	17	7,42	0,927
	18	7,28	0,924
	19	7,78	0,919
	20	7,64	0,923
DL-mentol:AcA (Meses)	1	7,25	0,926
	2	7,41	0,916
	3	7,68	0,920
	4	7,37	0,921
	5	7,74	0,923
	6	7,45	0,918
	7	7,78	0,921
	8	7,66	0,926
DL-mentol:DecA	1 (semana)	12,8	0,893
	após 1 ano	12,5	0,901
DL-mentol:DoDecA	1 (semana)	19,7	0,891
	após 1 ano	18,8	0,895

Como observado na Tabela 11, as medidas de viscosidade apresentaram valores mais elevados do que a água ultrapura (0,89 mPa.s), que foi utilizada como parâmetro de calibração.

Tabela 11. Valores de densidade dos HDES preparados.

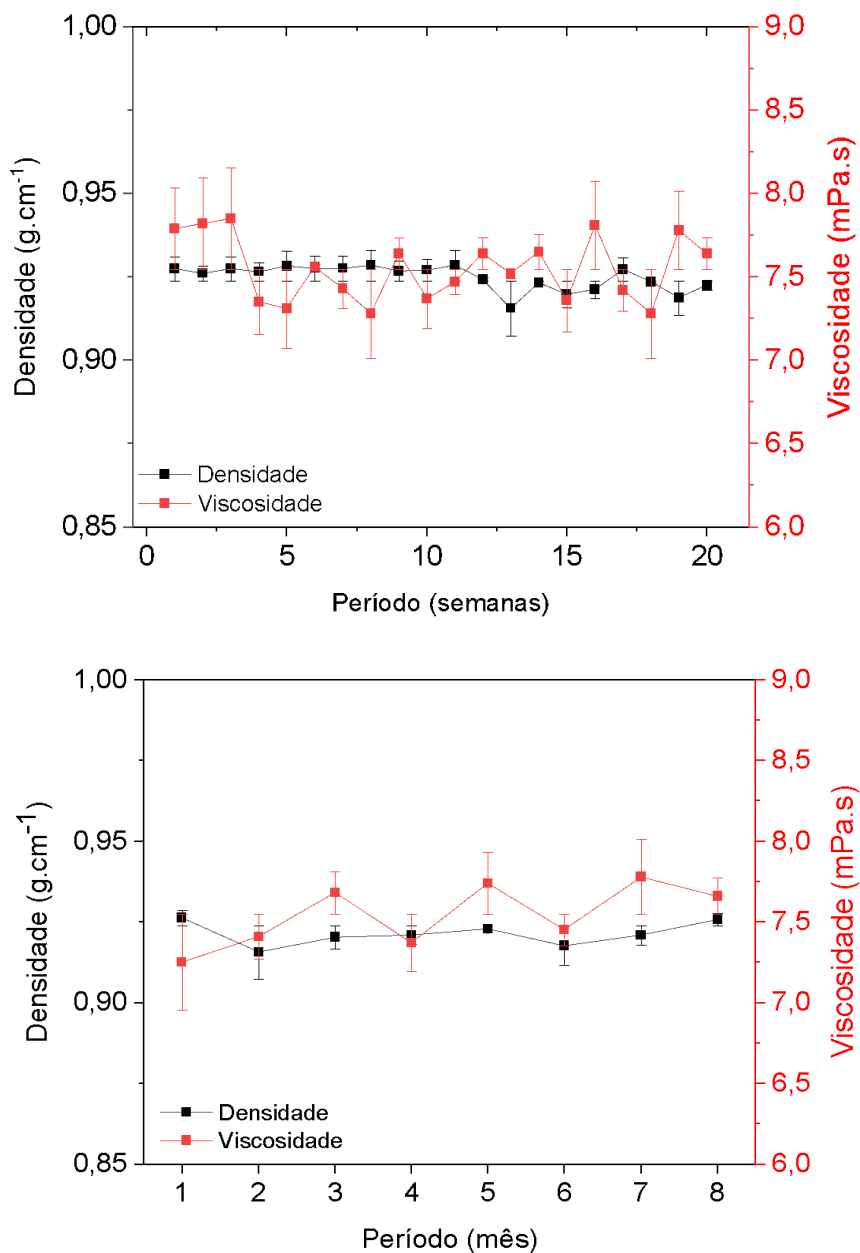
HDES	Densidade (g cm ⁻³) a 25°C	Viscosidade (mPa s) a 25°C
DL-mentol:DecA	0,895	12,4
DL-mentol:DoDecA	0,896	20,4
DL-mentol:AcA	0,923	7,88

A viscosidade está diretamente relacionada ao transporte de massa ocasionado, principalmente, pelo processo de difusão. A transferência dos analitos, presente na amostra aquosa para as microgotas formadas pelo HDES, geralmente é limitada pela lenta velocidade de difusão das moléculas do analito entre as duas fases.

Embora a temperatura e a viscosidade tenham um papel importante na difusão, um dos principais modos de favorecê-lo é reduzindo a distância em que as moléculas dos analitos devem percorrer durante a difusão. Desse modo, a dispersão do solvente extrator é favorecida pela adição do solvente dispersor na amostra, possibilitando a redução da distância entre as fases, o que contribui para o processo de difusão e transferência de massa para a fase orgânica [34], [65].

Na Figura 12, é possível identificar visualmente a confirmação desta afirmação, e também confirmar por meio de uma avaliação estatística dos dados, os baixos valores de desvio padrão de 0,0039 para a densidade, e 0,1886 para a viscosidade, e variação (CV%) 0,42 % para densidade e 2,5 % para a viscosidade.

Figura 12. Gráfico da variação da densidade e viscosidade do DL-mentol:AcA durante o período de 20 semanas, e posteriormente uma vez ao mês durante 8 meses.



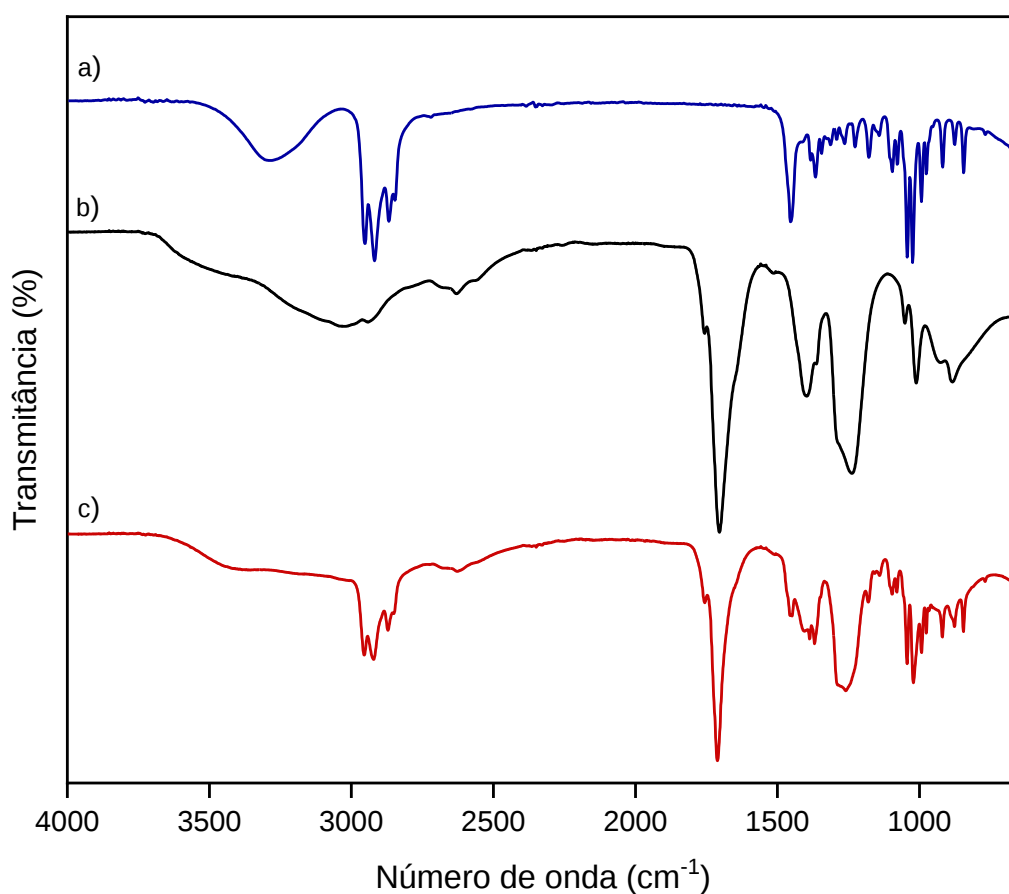
As outras duas misturas não foram avaliadas conforme citado acima, pois após testes preliminares, o DL-mentol:DecA e DL-mentol:DoDecA, não poderiam ser utilizados nas etapas de otimização. A resposta analítica obtida por Py-GC-MS não se mostrou eficiente, tendo como a principal causa a interferência e sobreposição do DL-mentol das misturas no sinal analítico, o que impossibilitou a determinação dos analitos. Contudo, a estabilidade desses solventes foi comprovada, já que as análises de densidade e viscosidade foram refeitas após

o período de um ano, e foi comprovado que os valores se mantiveram constantes, como mostrados também na Tabela 10.

4.2.2. Caracterização do HDES usando espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

A caracterização dos solventes eutéticos profundos hidrofóbicos (HDES) foi realizada também pela aplicação da técnica de espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR). Essa técnica permitiu a observação de grupos funcionais nos espectros gerados para os HDES. Como observado nas Figura 13, 14 e 15, todos os doadores de ligações de hidrogênio utilizados nas misturas eutéticas possuem o grupo ácido carboxílico em sua estrutura, o qual é representado por uma banda característica (grupo cetona ou carbonila) em torno de 1700 cm^{-1} .

Figura 13. Espectro de infravermelho (FTIR) obtido para a) DL-mentol b) AcA e c) DL-mentol:AcA.



A partir da avaliação dos espectros obtidos, foi possível identificar interações específicas entre os precursores do HDES, como as bandas correspondentes a ligação de hidrogênio. Na região espectral de 3400 a 2400 cm^{-1} , foram observadas bandas de absorção extremamente largas correspondentes a ligações O—H, que indicaram a presença de fortes interações de ligação de hidrogênio.

Essa absorção de O—H apresentaram altas intensidade e largura suficiente para mascarar as vibrações de estiramento C—H sp^3 (alcanos), que também são encontradas nessa faixa de comprimento de onda. Essas ligações intermoleculares de hidrogênio são relativamente fortes e contribuem para a estabilidade e estrutura da ligação [66].

Figura 14. Espectro de infravermelho (FTIR) obtido para a) DL-mentol b) DecA e c) DL-mentol:DecA.

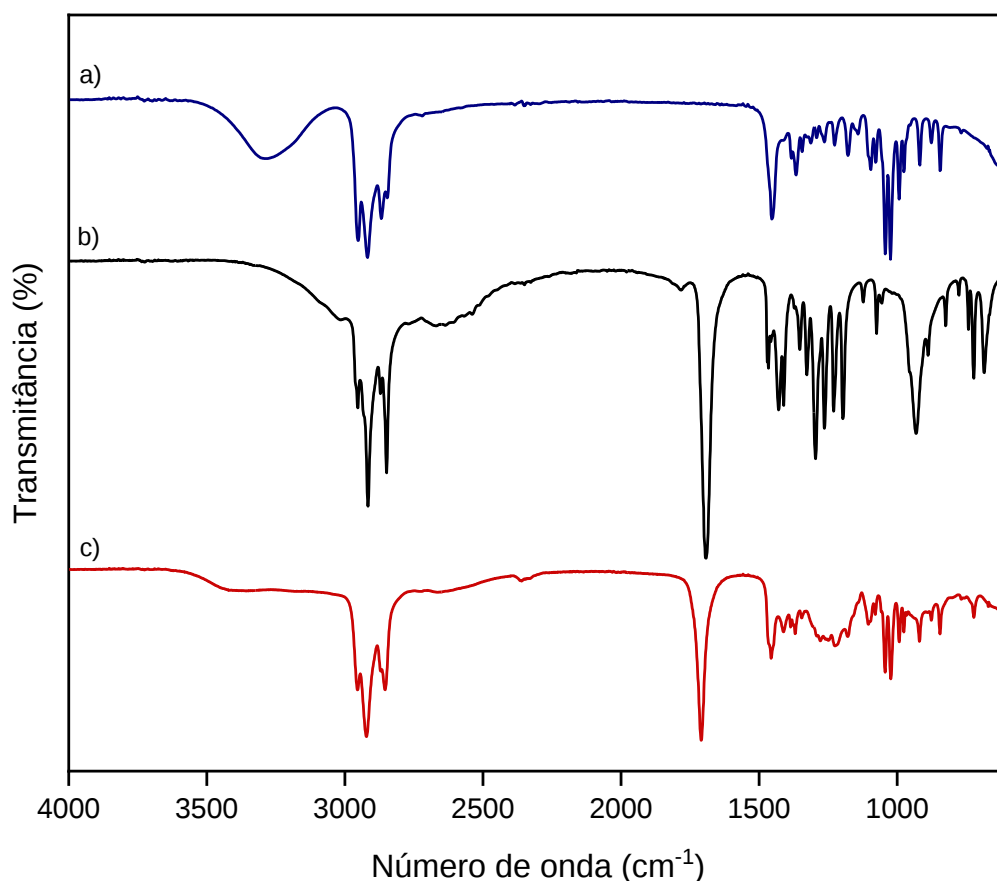
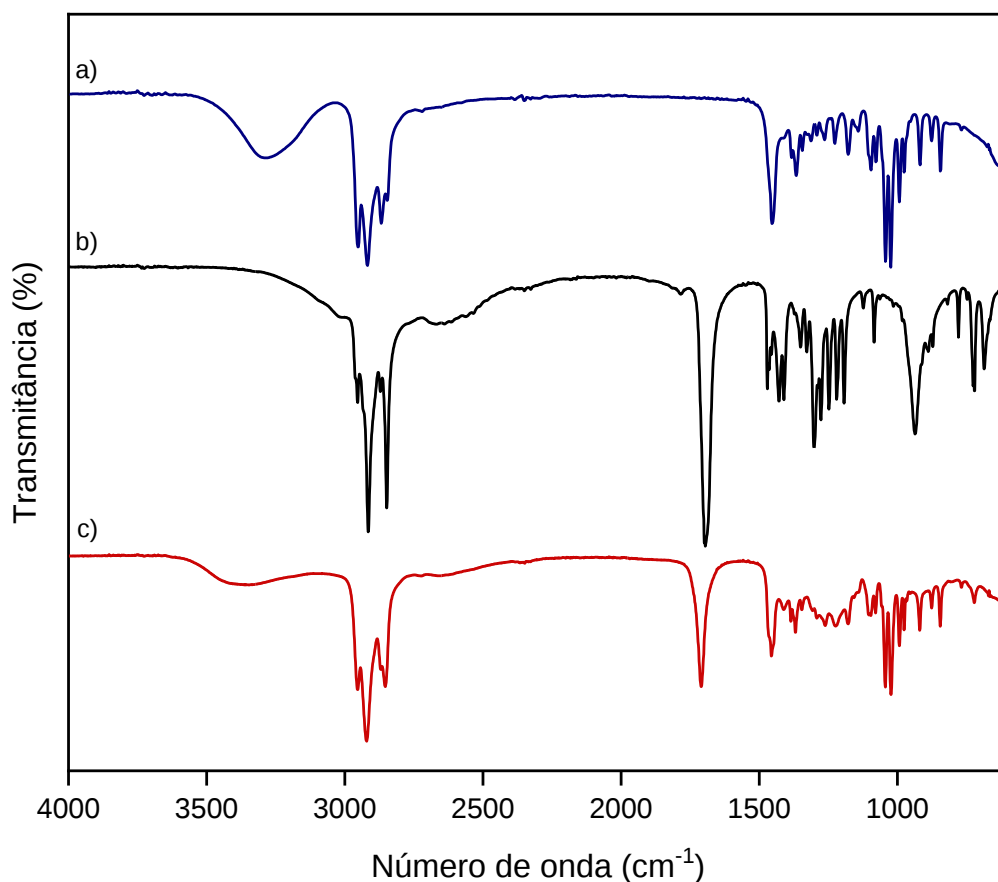


Figura 15. Espectro de infravermelho (FTIR) obtido para a) DL-mentol b) DoDecA e c) DL-mentol:DoDecA.

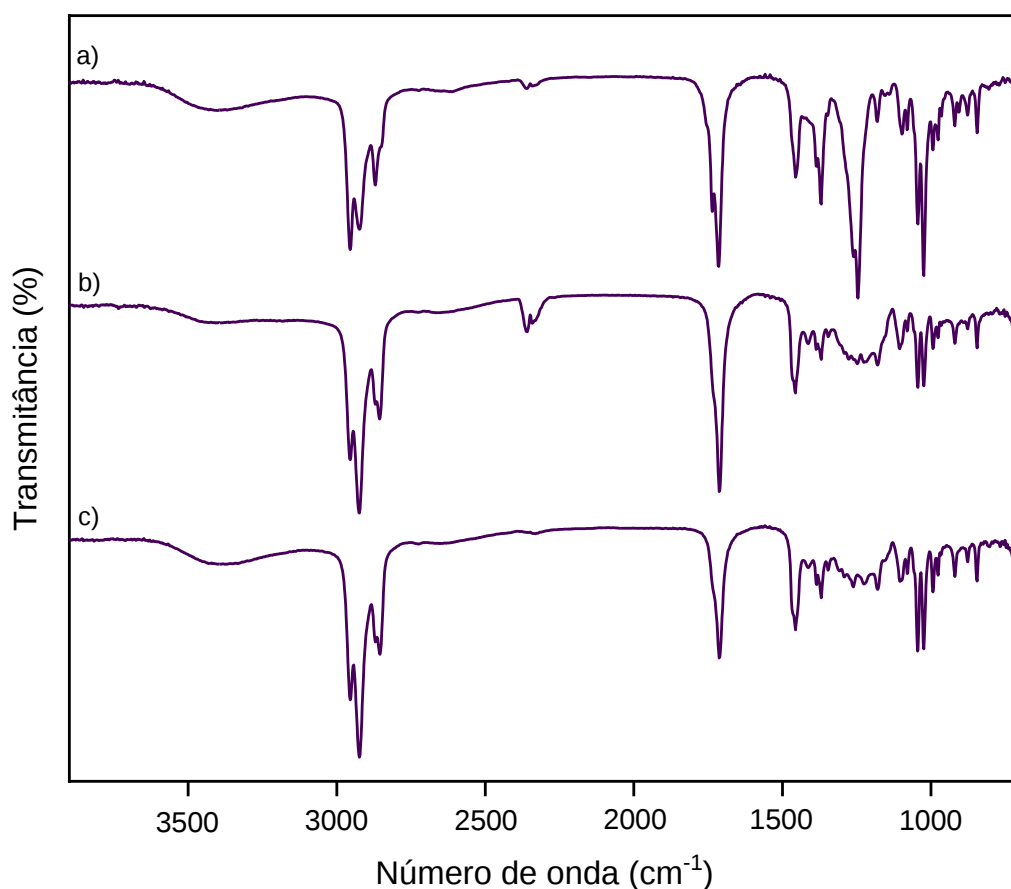


Na mistura eutética contendo DL-mentol:AcA, a característica mais acentuada em seu espectro, além da banda de absorção O—H, é a presença da ligação C=O (ácido carboxílico). Os ácidos, em soluções concentradas na forma de um líquido, tendem a dimerizar, enfraquecendo a ligação C=O, resultando em uma diminuição da frequência do estiramento da carbonila em ácidos saturados para aproximadamente 1710-1700 cm^{-1} [66], [67]. A absorção de estiramento da carbonila (C=O) é mais ampla e intensa em comparação a um aldeído ou uma cetona. As vibrações de estiramento C—O em ácidos (dímeros) aparece com intensidade média entre 1300-1000 cm^{-1} .

Pode ser observado que, para a mistura eutética DL-mentol:AcA, a banda carbonila do HBD estava originalmente localizada em número de onda baixos ($\sim 1690 \text{ cm}^{-1}$) e se desloca para os valores mais altos ($\sim 1745 \text{ cm}^{-1}$). Esta é uma indicação da formação de uma nova ligação de hidrogênio, o que sugere a formação dos HDES [30], [33], [56], [68].

Após um ano, foram realizadas novas análises de FTIR para detectar eventuais alterações nos grupos funcionais característicos de cada HDES, como demonstrado na Figura 16. No caso do DL-mentol:AcA, observou-se a redução na amplitude da banda correspondente ao O—H, acompanhada pelo aumento na intensidade das bandas de absorção de estiramento C—H sp^3 . Esses resultados indicam possíveis modificações na composição do solvente, sugerindo a formação de acetato de mentila. A validação dessa afirmação pode ser obtida por meio das análises de EGA, conforme apresentado nas Figuras 17, 18 e 19, combinado com as informações presentes na biblioteca do software. Para os HDES contendo a mistura de DL-mentol:DecA e DL-mentol:DoDecA, não foram observadas mudanças significativas nas bandas equivalentes às absorções O—H, de estiramento C—H sp^3 e no grupo C=O.

Figura 16. Espectro de FTIR dos HDES após o período de um ano a) DL-mentol:AcA b) DL-mentol:DecA c) DL-mentol:DoDecA.



A confirmação da estabilidade dos HDES também foi analisada avaliando os espectros de infravermelho após um ano, utilizando a técnica de EGA, para avaliar a composição dos gases desprendidos dos solventes. Quando o sinal máximo do gás é atingido no equipamento é possível observar as bandas do infravermelho dos compostos volatilizados.

Nas Figuras 17 e 18 é possível observar os espectros (c) e (d) dos dois gráficos, correspondentes aos anos de 2022 e 2023 respectivamente. Em ambas as figuras o sinal obtido nos dois espectros corresponde a bandas do DL-mentol, no caso houve um aumento da intensidade na região entre 3000-3050 cm^{-1} , contudo os espectros ainda são característicos desse precursor.

Figura 17. Espectros de FTIR obtidos a partir da técnica de EGA para o DL-mentol:DecA a) DecA b) DL-mentol c) DL-mentol:DoDecA (2022) d) DL-mentol:DoDecA (2023).

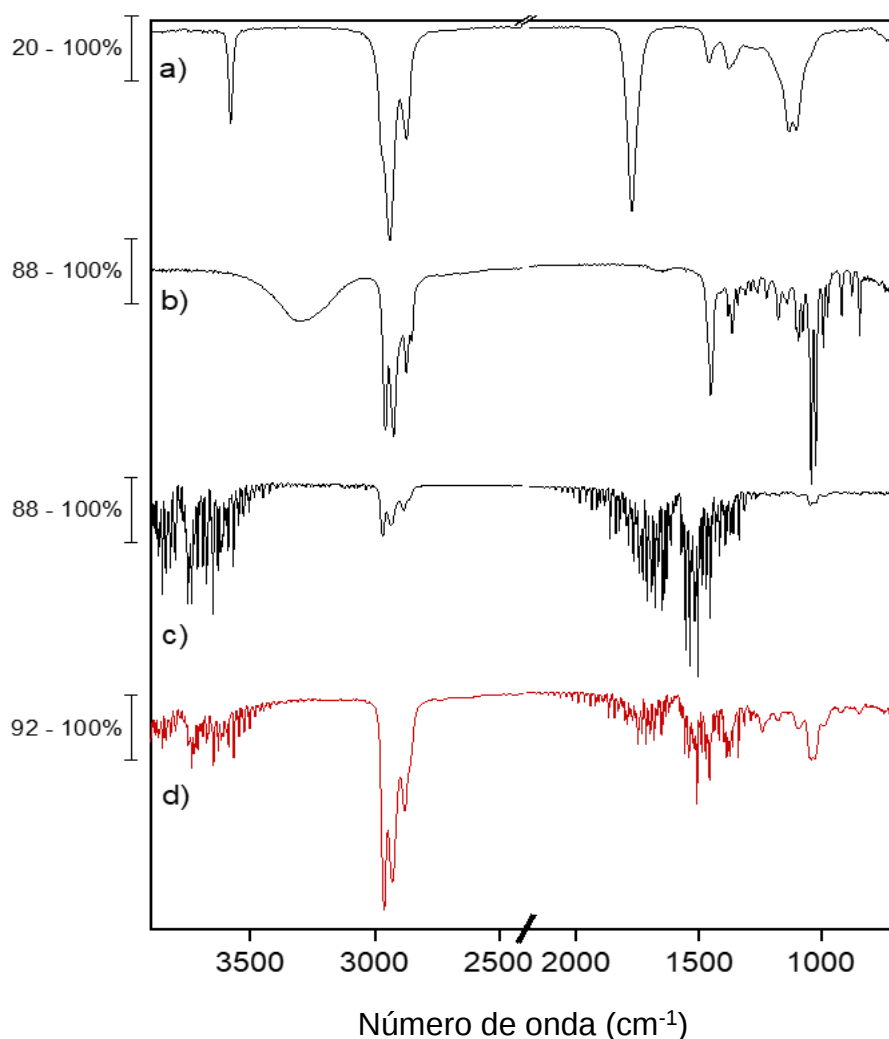
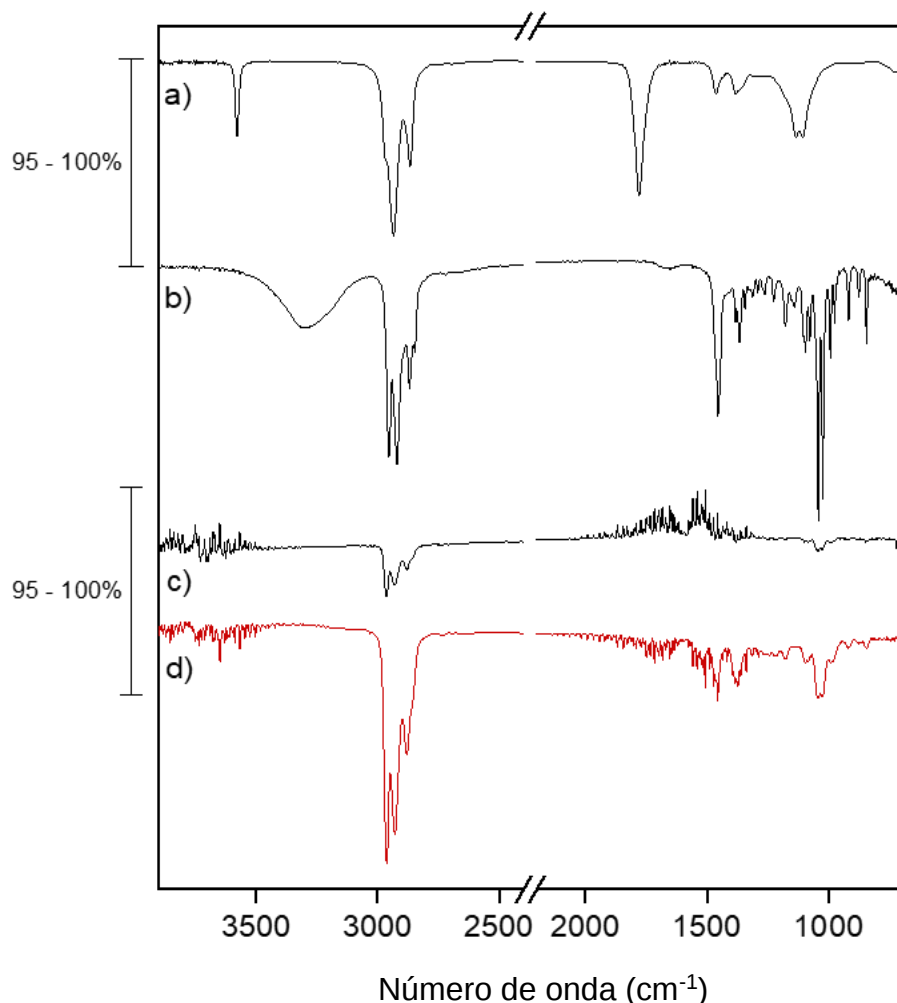


Figura 18. Espectros de FTIR obtidos a partir da técnica de EGA para o DL-mentol:DoDecA a) DoDecA b) DL-mentol c) DL-mentol:DecA (2022) d) DL-mentol:DecA (2023).

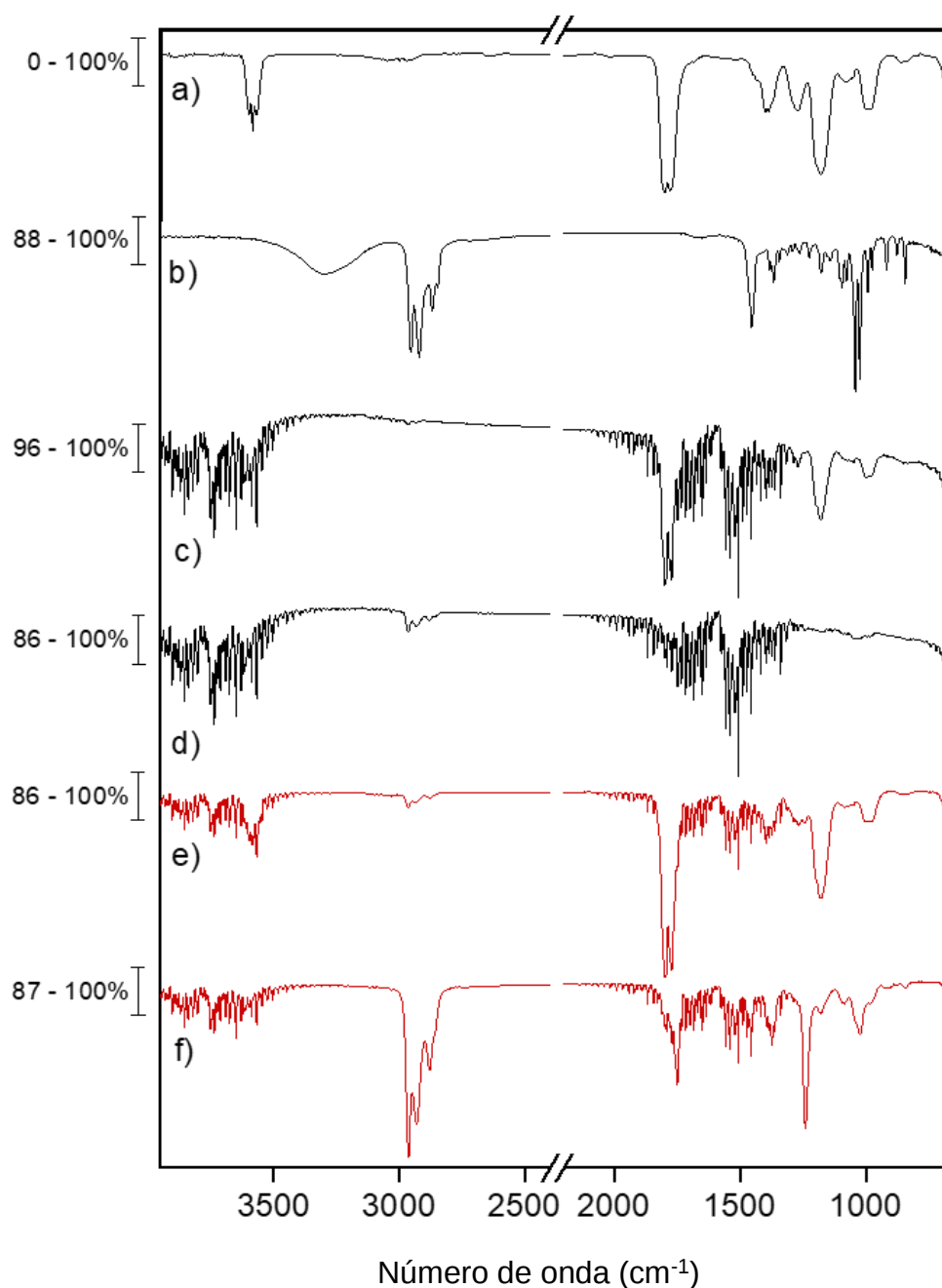


Na análise desses dois solventes, os resultados obtidos foram consistentes com os do ano anterior. Em outras palavras, apenas a presença do DL-mentol, que apresenta uma volatilização mais rápida do que os outros precursores da mistura, foi confirmada. Portanto, pode-se concluir que não ocorreram alterações na composição dos gases volatilizados para ambos os solventes. É importante destacar que os espectros dos precursores DecA e DoDecA, não foram identificados pela técnica de EGA em 2022 e nem em 2023.

No entanto, para a mistura DL-mentol:AcA, como demonstrado na Figura 19, foi observado a presença de grupos funcionais referentes ao ácido acético no espectro (c), e grupos relacionados ao DL-mentol nos espectros (d) e (e). Quando o espectro (f) foi avaliado, observou-se indícios da formação de um novo composto, no caso o acetato de mentila, a partir na análise de suas bandas

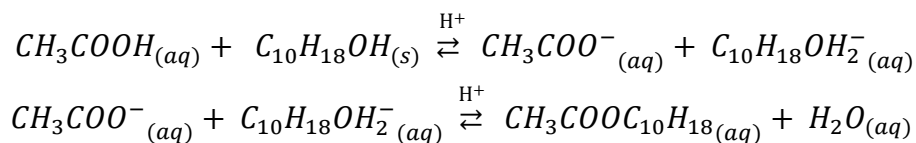
características. A confirmação da formação desse composto pode ser realizada a partir das análises por GC-MS, que serão concluídas posteriormente.

Figura 19. Espectros de FTIR obtidos a partir da técnica de EGA para o DL-mentol:AcA a) AcA b) DL-mentol c) AcA (2022) d) DL-mentol (2023) e) AcA (2023) f) Acetato de mentila (2023).



Essa reação, conhecida como reação de esterificação, envolve a transformação do ácido acético (um ácido carboxílico) e do DL-mentol (um

álcool) para produzir acetato de mentila (um éster). A equação que exemplifica esse processo pode ser observada abaixo.



A reação é catalisada frequentemente por um ácido. O mecanismo geral envolve a remoção de uma molécula de água da reação entre o ácido carboxílico e o álcool, para formar o éster e a água. Sendo o produto final o acetato de mentila.

O estudo da volatilização dos compostos ainda permitiu a avaliação de sinais correspondentes ao acetato de mentila quando analisados por Py-GC-MS, o que poderia alterar a qualidade da resposta analítica desejada. No caso, os íons correspondentes a esse composto apresentam m/z de 41, 43, 81 e 95, não foram identificados durante as análises.

4.2.3. Caracterização termoanalítica dos HDES

Os resultados apresentados por FTIR indicaram a formação da mistura eutética, contudo, outras caracterizações são importantes para essa confirmação. Portanto, foi realizada a caracterização termoanalítica como complemento da FTIR, a partir da medida da razão de fluxo de calor entre a amostra e um material de referência colocado no DSC.

Nesta análise, foi possível atribuir aos eventos endotérmicos, que correspondem aos pontos de fusão (p.f) de cada precursor, como demonstrado na Figura 20. Os valores obtidos experimentalmente foram comparados com os descritos nas Fichas de Informações de Segurança de Produtos Químicos (FISPQ) de cada precursor, como apresentado na Tabela 12, os valores obtidos experimentalmente foram próximos, o que sugere uma confiabilidade da análise realizada.

Figura 20. Eventos endotérmicos correspondentes aos pontos de fusão dos precursores utilizados no preparo dos HDES a) DL-mentol b) AcA c) DecA d) DoDecA.

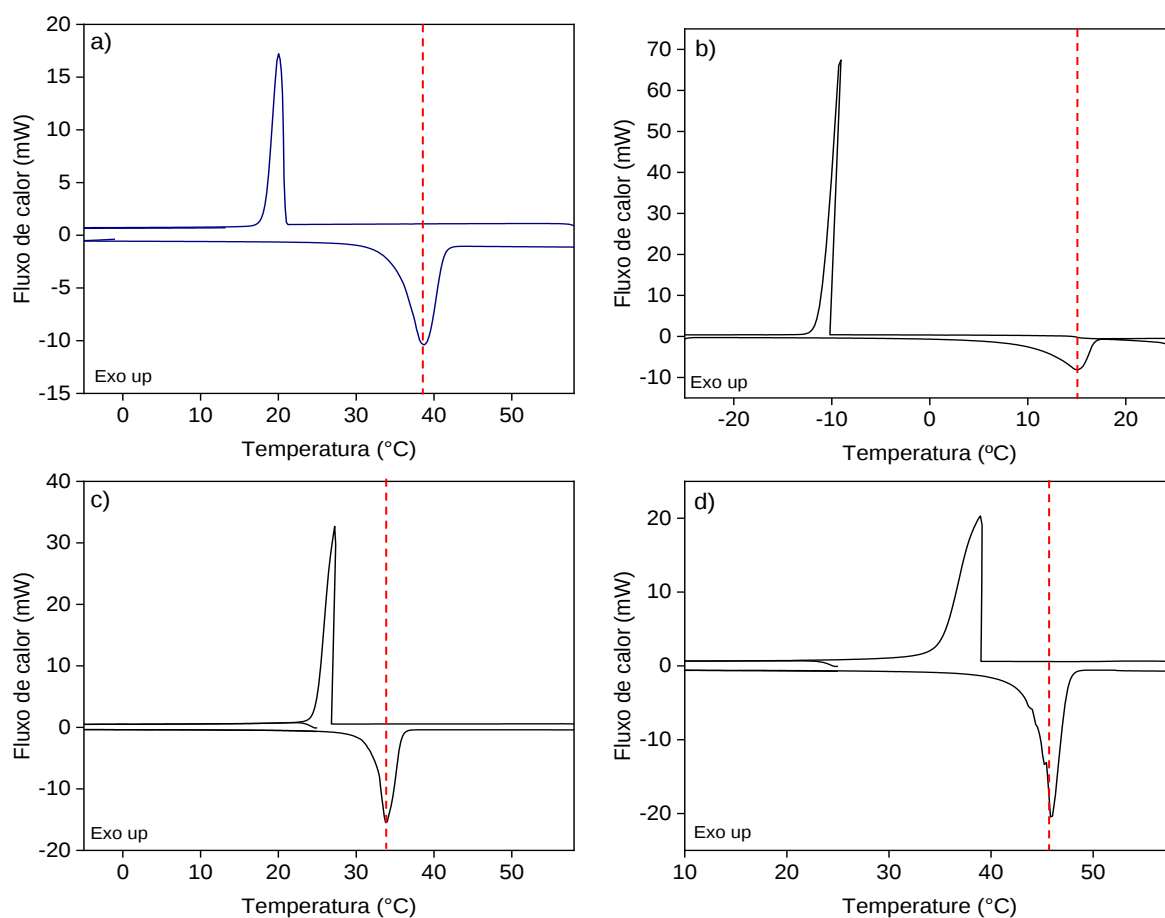


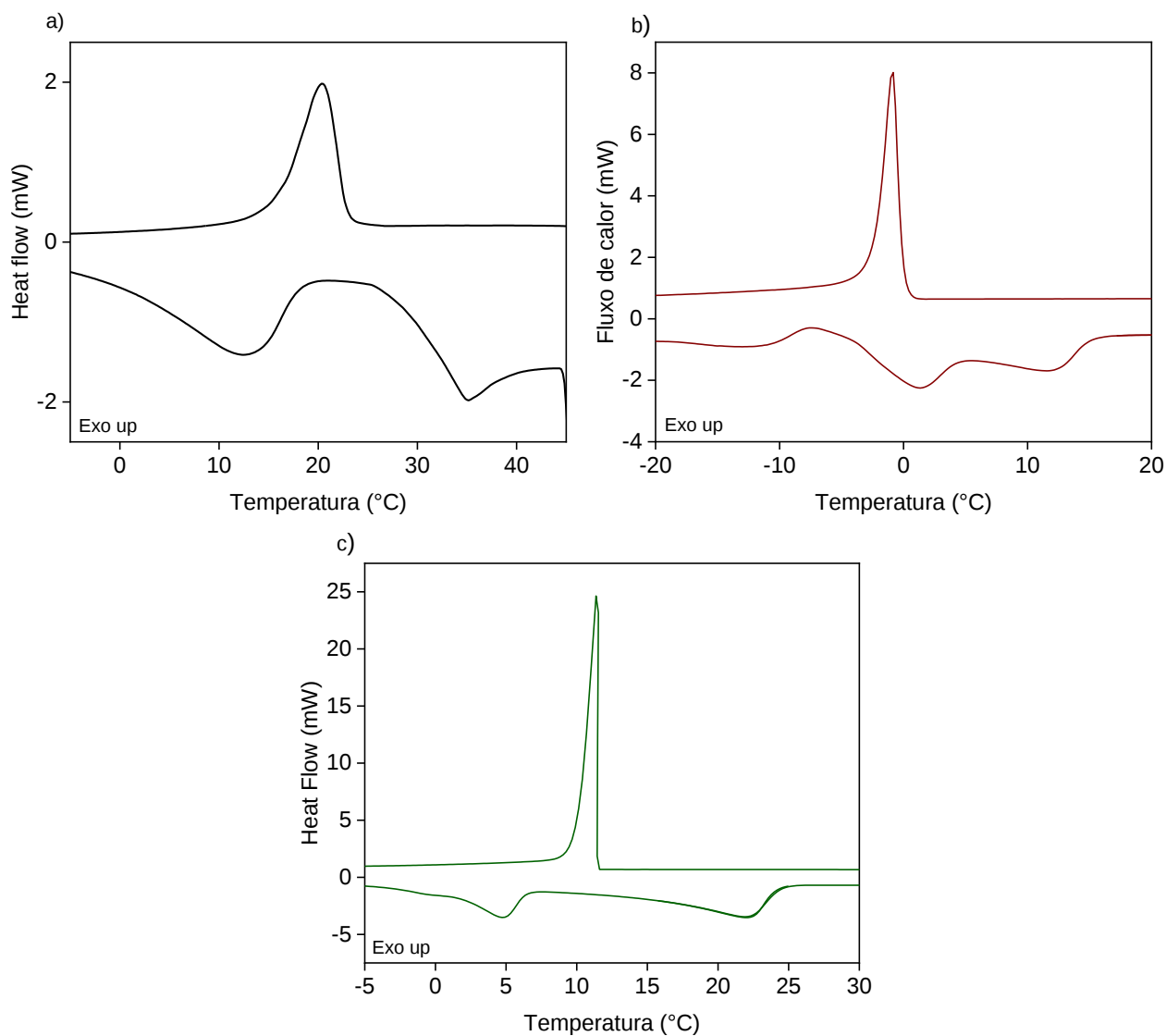
Tabela 12. Valores dos pontos de fusão de cada precursor, obtidos através da ficha FISPQ, e experimentalmente.

Precursores	Temperatura de fusão (°C) literatura	Temperatura de fusão (°C) experimental
DL-mentol	≈ 36,0	39,5
AcA	16,6	15,1
DecA	31,6	33,6
DoDecA	43,2	46,2

Após a etapa de análise dos precursores, os p.f dos HDES, em proporções escolhidas para o desenvolvimento do trabalho, foram medidos, como apresentado na Figura 21. A avaliação das informações sugeriu que para os três casos, houve a formação das misturas eutéticas, devido aos valores baixos de p.f obtidos para os HDES em relação a de seus precursores separadamente. Os valores obtidos para o DL-mentol:AcA (1:1) foi de 12,3 °C,

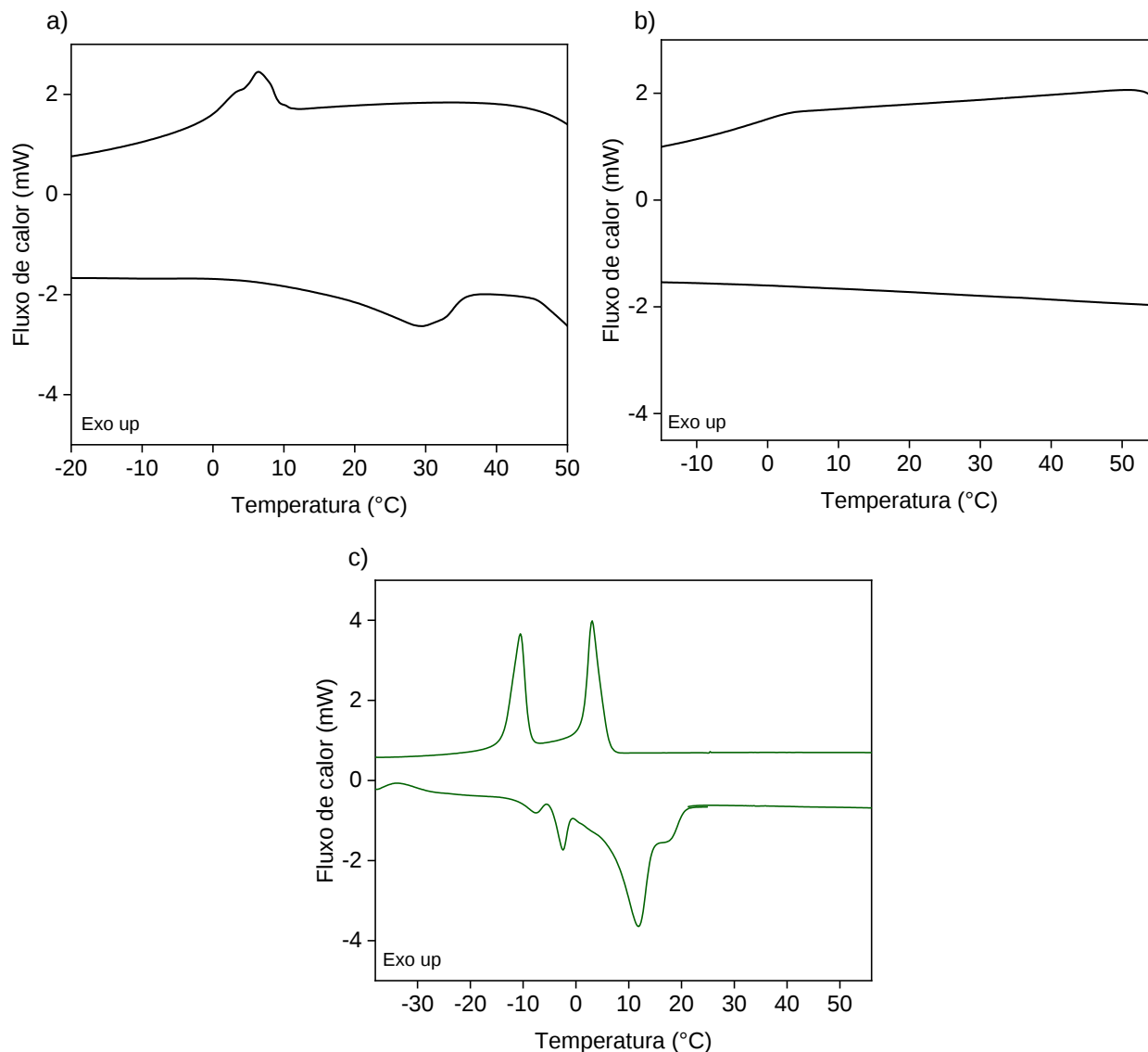
para o DL-mentol:DecA (1:1) foi de 1,15 °C e para o DL-mentol:DoDecA (2:1) foi de 11,5 °C.

Figura 21. Eventos endotérmicos correspondente aos pontos de fusão dos HDES seleccionados para estudo preliminar do trabalho, obtidos por análise de DSC a) DL-mentol: AcA (1:1) b) DL-mentol:DecA (1:1) d) DL-mentol:DoDecA (2:1).



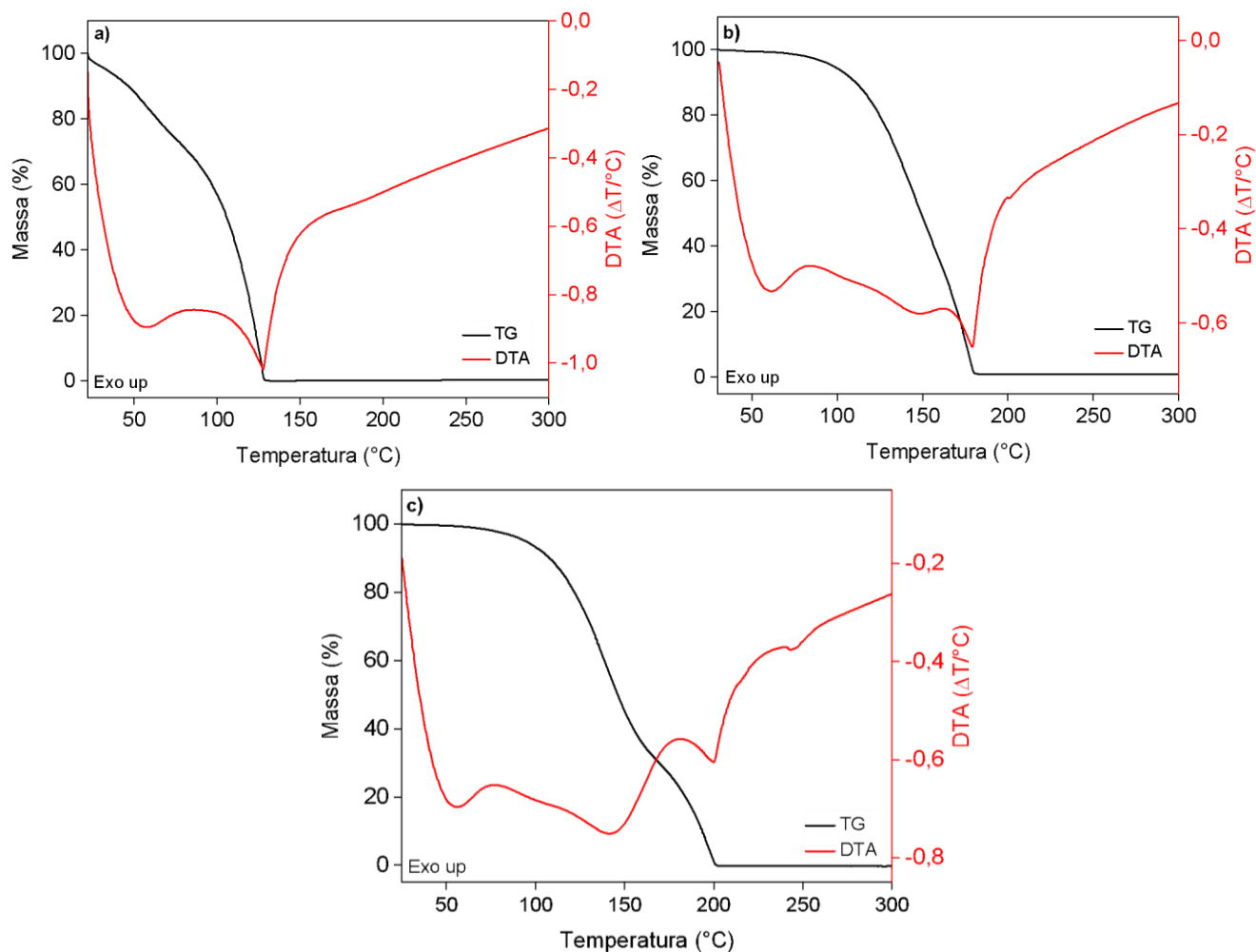
Além das razões molares escolhidas, outras proporções também foram testadas. Na Figura 22, estão representados os eventos para apenas dois HDES. A análise por DSC das duas proporções propostas para o DL-mentol:DoDecA não foi realizada, uma vez que após a produção desses HDES, a mistura cristalizou, impossibilitando a realização de sua aplicação na etapa de preparo de amostra conforme o que foi proposto.

Figura 22. Investigação dos eventos endotérmicos correspondente aos pontos de fusão dos HDES em diferentes proporções para a) DL-mentol:AcA (1:2) b) DL-mentol:AcA (2:1) c) DL-mentol:DecA (1:2).



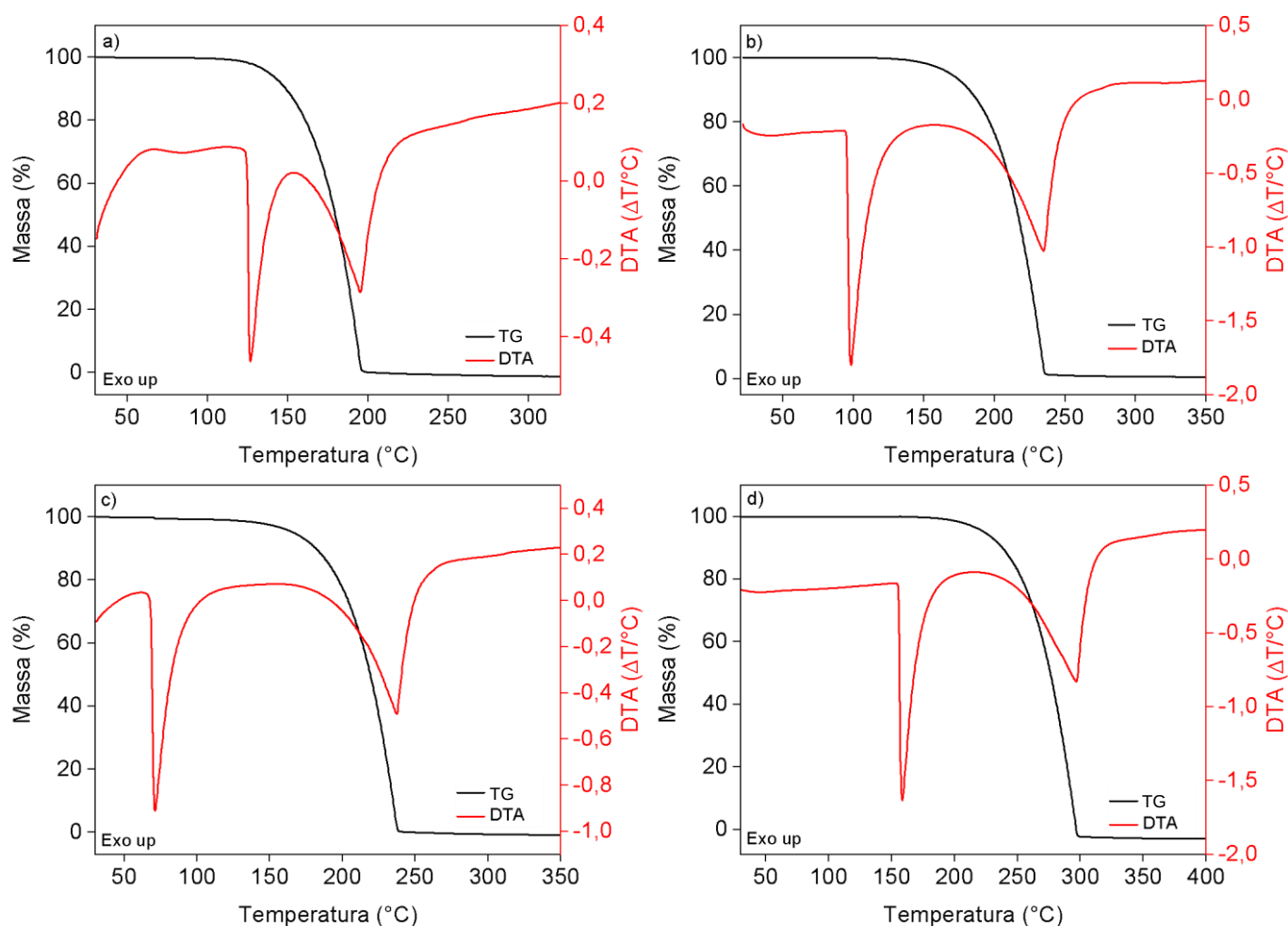
Outras análises foram utilizadas para a caracterização dos HDES, como a análise termogravimétrica, permitindo investigar a estabilidade térmica dos HDES em temperaturas elevadas. Essa análise possibilitou estipular valores de temperatura a serem estudados no pirólisador, de modo a volatilizar totalmente o extrato da amostra presente no cadinho, após a extração por DLLME. Como apresentado na Figura 23, as etapas de perda de massa e eventos endotérmicos relacionados a essas perdas ocorreram em temperaturas entre 140 a 210 °C, sendo necessário utilizar a técnica de EGA para confirmar a presença dos compostos que foram volatilizados.

Figura 23. Curvas termogravimétricas obtidas para os HDES a) DL-mentol:AcA b) DL-mentol:DecA c) TGA DL-mentol:DoDecA



Foi utilizada a temperatura de 320 °C, no método desenvolvido, pois esse valor corresponde à completa volatilização dos analitos no cadinho. Na Figura 24, é possível confirmar que após as análises por TG, os quatro compostos são completamente volatilizados em um intervalo de temperatura de 200 a 300 °C. A pré volatilização do solvente impede a saturação do sistema. Deste modo, a temperatura escolhida se mostrou adequada para uso no pirolisador utilizado na introdução da amostra no sistema de GC-MS.

Figura 24. Curvas termogravimétricas de TG (linha preta) e DTA (linha vermelha) dos padrões a) metilparabeno b) propilparabeno c) butilparabeno d) bisfenol A.

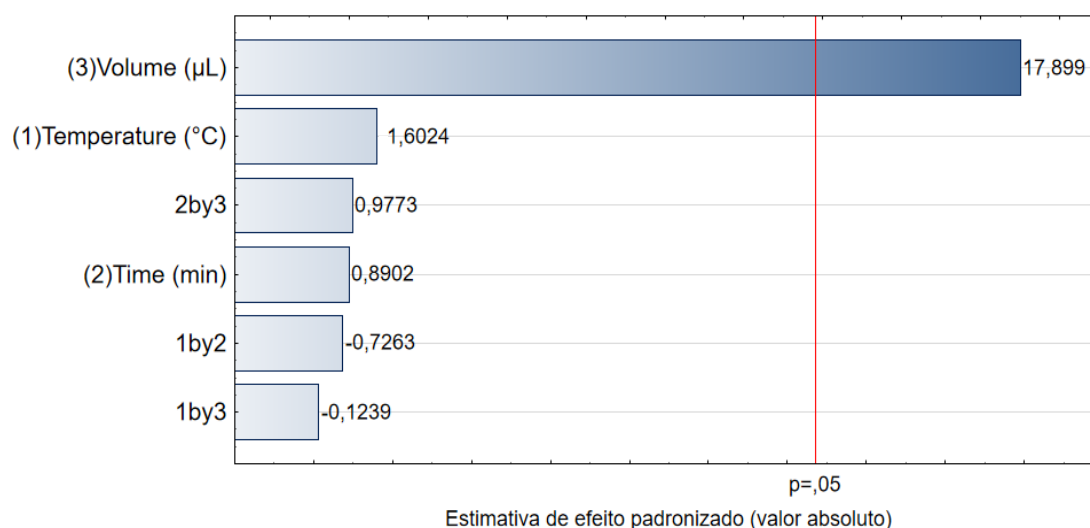


4.3. Planejamento fatorial para a avaliação da introdução da amostra no pirolisador

No início do estudo, foi conduzido um experimento exploratório com o intuito de determinar e identificar quais fatores exercem uma influência relevante no modelo proposto [23]. O planejamento fatorial completo (2^k) foi realizado inicialmente como forma de avaliar a influência dos parâmetros como tempo, temperatura e volume de injeção, na introdução da amostra pelo pirolisador. Nesta etapa, foi utilizada uma solução em MeOH contendo os padrões analíticos dos parabenos e bisfenol A em concentração de $3,00 \text{ mg L}^{-1}$. Após a realização de 8 experimentos foi observado que a resposta analítica tende a ser mais eficiente quando ocorre o aumento do volume de injeção, como apresentado na

Figura 25, sendo essa variável a mais significativa, indicando nesta primeira avaliação o volume ótimo de 10 μL .

Figura 25. Gráfico de Pareto obtido após a aplicação de DOE para avaliar a introdução da amostra usando o pirolisador.



A otimização univariada foi realizada para confirmar a resposta da análise anterior, portanto, as variáveis correspondentes a temperatura (320 $^{\circ}\text{C}$) e tempo (0,5 min) permaneceram fixas, e os valores para o volume variaram de 2,0 μL a 20 μL , gerando um total de dez experimentos. Posteriormente a essa análise, foi observado que o desempenho da resposta analítica era favorecido novamente pelo volume, deste modo, o volume de 20 μL foi selecionado como valor de melhor resposta, e foi utilizado para todos os testes subsequentes. As injeções convencionais de líquidos pelo pirolisador não devem exceder o volume de 2 μL , devido à expansão do solvente no injetor. Portanto, a secagem da amostra é essencial ao utilizar volumes elevados, antes de ser introduzida no pirolisador, como é o caso deste estudo.

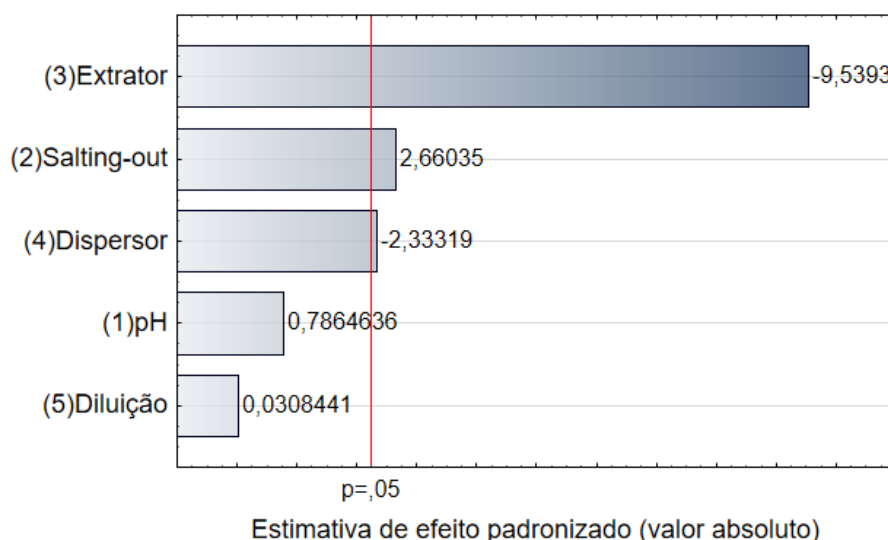
Após a definição do volume de injeção, parâmetro mais significativo do planejamento, manteve-se os parâmetros operacionais do pirolisador descritos na etapa de otimização e prosseguiu-se com o desenvolvimento do método.

Para a DLLME, a amostra de lodo foi fortificada com concentração de 3,00 mg L^{-1} dos analitos, e foram escolhidas e avaliadas variáveis que poderiam influenciar nas respostas analíticas do planejamento fatorial, tais como pH,

salting-out, volume do solvente dispersor, volume do solvente extrator e a diluição do lodo.

Primeiramente, foi realizado um planejamento fatorial fracionário (2^{5-1}), que possibilitou a redução do número de experimentos, de 32 para 17, com três repetições no ponto central. Como apresentado na Figura 26, após o planejamento exploratório, foi verificada a influência de três variáveis para o método proposto, entre elas o salting-out, volume de solvente extrator e volume do solvente dispersor.

Figura 26. Gráfico de Pareto obtido pelo planejamento fatorial fracionário 2^{5-1} destacando as variáveis mais significativas nessa avaliação.



Embora a resposta deste planejamento demonstre fatores mais significativos, a condição otimizada ainda não é totalmente conhecida, já que é possível determinar situações extremas e pontos de melhora para o ganho de respostas analíticas. Deste modo, fez-se necessário o uso de um planejamento de refinamento, como o planejamento com composto central, no qual a faixa de estudo de cada variável foi alterada, possibilitando uma análise precisa das condições ótimas de trabalho.

Na Figura 27, é possível observar o gráfico de Pareto, no qual é evidenciado que apenas o salting-out possui significância no modelo proposto, tendendo a valores baixos de NaCl. Na Figura 28, estão apresentadas as

superfícies de resposta correspondentes a essa condição ótima. Os fatores identificados como críticos desempenham um papel essencial na compreensão e modelagem dos eventos relacionados ao processo em análise, e corresponderam a valores aproximados de 300 μL de volume para o HDES, 350 μL de volume para ACN e 27 % m/v de NaCl.

Figura 27. Gráfico de Pareto obtido pelo planejamento fatorial com composto central destacando as variáveis mais significativas na etapa de extração pela DLLME.

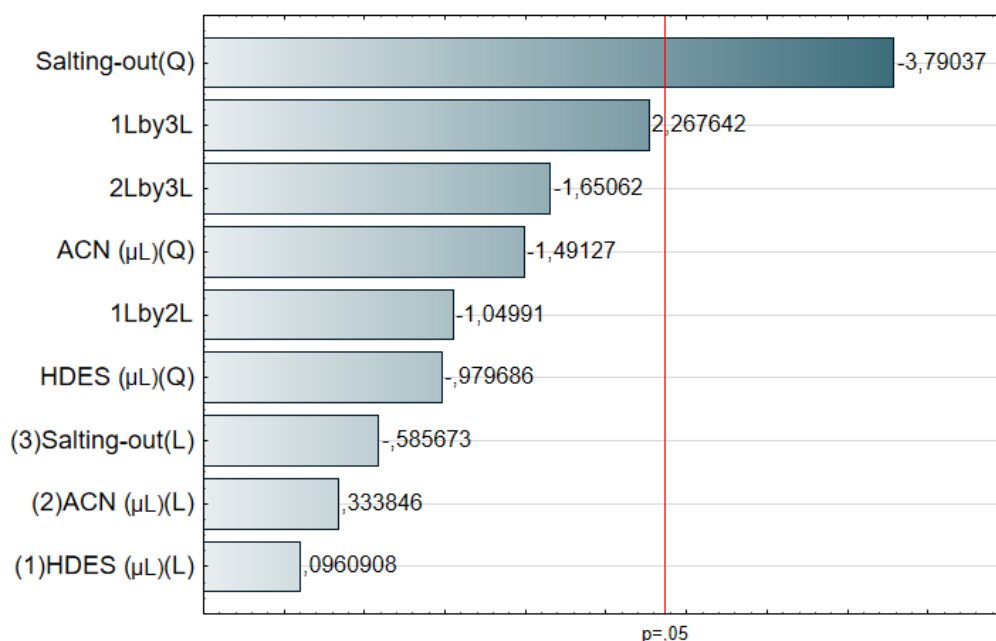
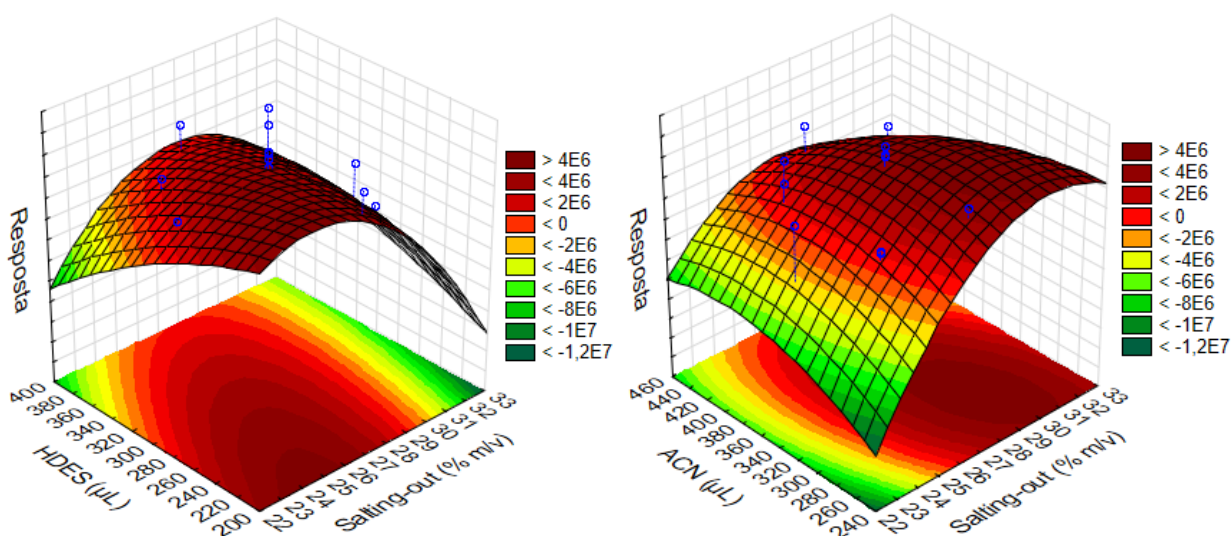


Figura 28. Superfície de resposta das variáveis significativas obtidas após a aplicação de DOE na etapa da DLLME.



A fase orgânica recolhida, com um volume de 20 μL , foi diluída em 50 μL de ACN para reduzir a viscosidade do HDES, minimizando assim o risco de contaminação e danos no sistema do Py-GC-MS. Da mistura envolvendo solvente extrator e dispersor um volume de 20 μL foi adicionado ao cadinho para a injeção. Dessa maneira, o uso do planejamento fatorial mostrou-se eficaz e econômico para estudar o impacto das variáveis no processo planejado, resultando na otimização de processos e na obtenção de resultados confiáveis.

4.4. DLLME em amostra de lodo doméstico

O estudo das propriedades da amostra foi realizado, como apresentado na Tabela 13, sendo alguns aspectos essenciais para a etapa de preparo da amostra. O Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) [18] dispõe que os efluentes de fontes poluidoras podem ser lançados ao corpo hídrico, seguindo as condições previstas por lei. Para tal processo, os efluentes devem ser previamente tratados adequando o pH na faixa de 5 a 9. A amostra de lodo doméstico coletada foi analisada, e o valor de pH obtido ($\text{pH}=7$) atendeu as normas estabelecidas pelos órgãos oficiais.

O valor de pH apropriado da amostra aquosa deve ser estabelecido para o grupo de analitos de estudo. O pH da solução pode ter efeitos significativos na extração, pois está associado com o grau de ionização, parcial ou completa dos analitos, que são aspectos que podem interferir no coeficiente de distribuição (K_d) dos analitos [69], [70].

A dissociação do HBD e HBA podem ocorrer em amostras básicas ou ácidas, o que pode alterar a razão molar utilizada para a produção do HDES, afetando a eficiência do processo de preparo de amostras [63]. O planejamento de experimentos, realizados na etapa de preparo de amostra, permitiu avaliar a influência do pH da amostra na DLLME. Para esse processo, a amostra foi tamponada para que não ultrapassasse os valores de pH 2 e 10. Como conclusão, após a otimização, identificou-se que o pH não tinha significância na microextração, possibilitando a utilização do meio básico para as análises posteriores, o que corrobora com as propriedades básicas dos analitos.

A condutividade da amostra foi analisada e como demonstrado na Tabela 13, foi obtido um valor correspondente com os de referência presentes em documentos oficiais. Embora muitos compostos orgânicos sejam covalentes, e não ionizam de maneira significativa em soluções aquosas, podendo resultar em amostras com baixas condutividades, há exceções a essa informação. Alguns compostos orgânicos podem apresentar ionização dependendo do pH da solução. Um exemplo ocorre com ácidos orgânicos em meio ácido, no qual podem liberar íons H^+ no meio aquoso, formando íons carboxilatos [43].

De acordo com o CONAMA os parâmetros de Carbono Orgânico Total (TOC) para água de consumo está em uma faixa de 1,00-3,00 $mg\ L^{-1}$. Já para amostra de efluente industrial, esse valor não foi encontrado nos documentos oficiais [71]. Os níveis de turbidez aceitáveis, necessários para garantir a eficácia do processo de desinfecção e o cumprimento dos padrões de potabilidade em vigor, devem ser inferiores a 5,0 NTU. A turbidez de águas não tratadas pode apresentar uma ampla variação, desde valores abaixo de 10 NTU em lagos até milhares de unidades em rios altamente poluídos. Embora não haja um valor máximo que pode ser detectado, quando os valores ultrapassam 40 NTU, a amostra deve ser diluída [16], [71], [72].

Tabela 13. Caracterização do lodo filtrado.

Análises	Parâmetros referência [71], [72]	Amostra coletada
pH	6,00-9,00	7,00
Condutividade ($mS\ cm^{-1}$)	n.c	1191
DQO ($mgO_2\ L^{-1}$)	450	455
TOC ($mg\ L^{-1}$)	n.c	85,0
Turbidez (NTU)	40,0	55,0

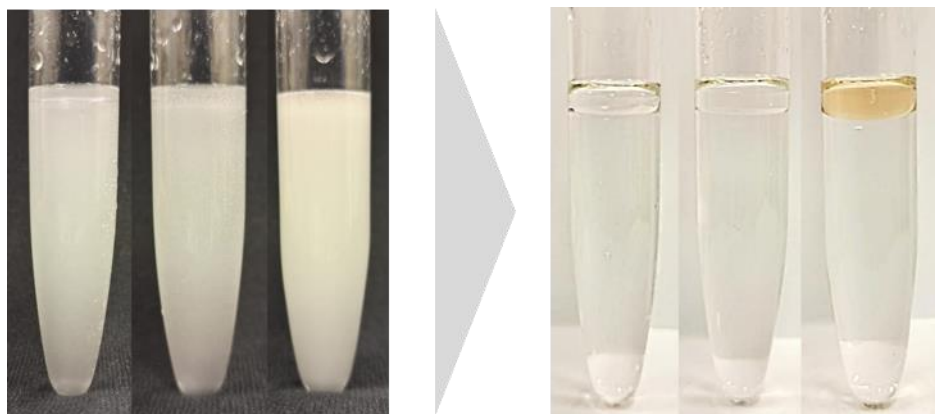
n.c: não consta

Na etapa de preparo da amostra, foi realizado um tratamento prévio na amostra de lodo. Devido a quantidades significativas de gorduras na amostra, foi realizada a filtração com um filtro de fibra de vidro, para obter a fase aquosa, evitando a formação de emulsões e promovendo a completa separação entre as fases sólida e aquosa [31]. Esse procedimento impediu uma interação reduzida entre o analito e a matéria orgânica particulada, resultando em menores

interferências durante a extração. Na etapa final da DLLME a fase orgânica rica em HDES e analitos foi coletada para análises posteriores [63].

Na DLLME o equilíbrio de partição é atingido rapidamente e pode sofrer influência da força iônica no processo de separação. A adição do NaCl pode diminuir a solubilidade do solvente extrator e alterar a eficiência da extração. Utilizando o DOE na etapa de preparo de amostra foi possível observar uma tendência de melhores respostas analítica, após o processo de extração, quando adicionados valores maiores de sal na amostra ($\approx 27,0$ % m/v) [60]. Na Figura 29, é observado a dispersão do HDES na amostra aquosa, após a centrifugação do sistema, sendo evidente a partição das fases orgânica e aquosa. A fase superior, composta pela fase orgânica, foi coletada e armazenada para análises posteriores por meio de Py-GC-MS.

Figura 29. Foto da DLLME usando o HDES como solvente extrator em amostra aquosa.



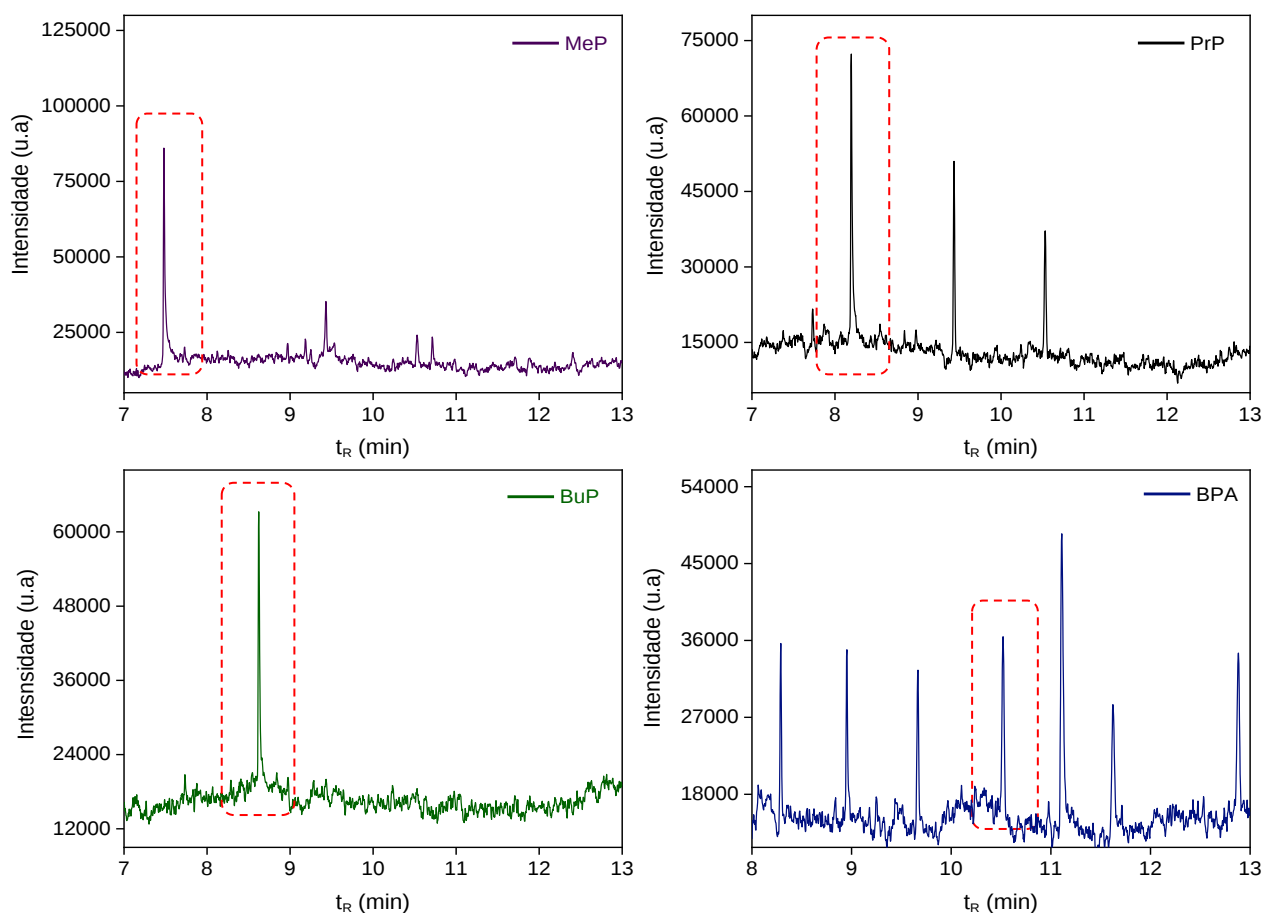
Fonte: Acervo pessoal

4.5. Cromatografia gasosa de pirólise acoplada ao espectrômetro de massas (Py-GC-MS)

Após o processo de preparo de amostra o eluato recolhido foi analisado por Py-GC-MS. Os cromatogramas obtidos no modo SCAN foram comparados com a literatura, de modo a identificar os íons fragmentos correspondentes para cada analito, após a injeção dos padrões analíticos. Na Figura 30, é possível observar os analitos identificados nessa etapa. Os tempos de retenção (t_R)

obtidos no modo SCAN foram essenciais para estabelecer uma ordem na qual os analitos são eluídos, sendo MeP 7,32 min; PrP 8,19 min; BuP 8,49 min e o BPA a 10,65 min. Contudo, após uma troca de coluna, devido a contaminações do sistema que afetarem a resposta analítica, esses t_R apresentaram valores maiores, como demonstrado na Figura 28, já sendo feito no modo SIM. Esses valores foram utilizados como parâmetro até o término das análises, sendo 8,31 min para o MeP; 9,05 min para o PrP; 9,54 min para o BuP e 12,71 min para o BPA. Estes valores foram utilizados como parâmetros até a finalização das análises.

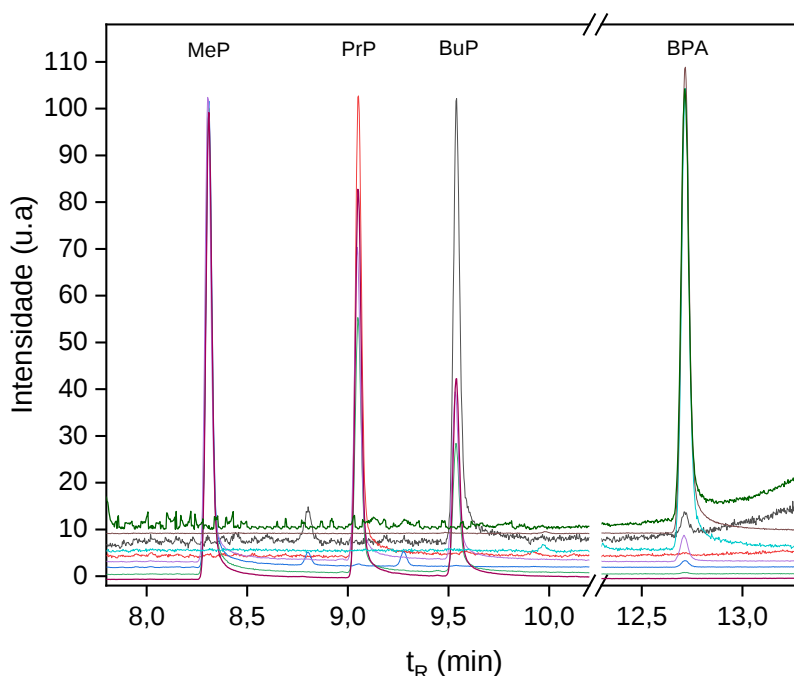
Figura 30. Cromatogramas dos padrões dos analitos obtidos no modo SCAN a concentração de 10 mg L^{-1} em solvente (MeOH).



Os íons fragmentos correspondentes para cada analito obtido no modo SCAN, em conjunto, com o tempo de retenção observados nos padrões analíticos, foram utilizados nas análises posteriores, no modo SIM, para auxiliar na identificação e determinação de cada analito em uma amostra fortificada.

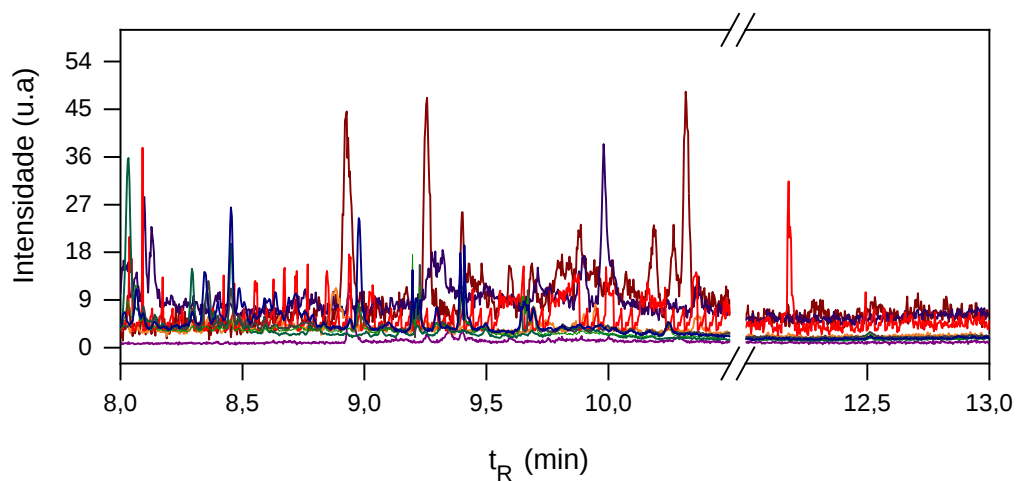
Foram escolhidos, levando em consideração os dados da literatura e experimentalmente, os íons fragmentos selecionados para o MeP (com m/z de 121, 152, 93 e 65), PrP (com m/z de 121, 180, 93 e 65), BuP (com m/z de 121, 194, 93 e 65) e BPA (com m/z de 213, 119 e 138). Os picos base representados pelos íons m/z 121 e 213, foram utilizados para na etapa de quantificação. Na Figura 31, estão representados os cromatogramas do mix contendo os padrões dos analitos na concentração de $3,00 \text{ mg L}^{-1}$ em MeOH no modo SIM, na condição ótima tanto para a injeção como para a DLLME.

Figura 31. Cromatograma obtido no modo SIM contendo todos os analitos em MeOH na concentração de $3,00 \text{ mg L}^{-1}$.



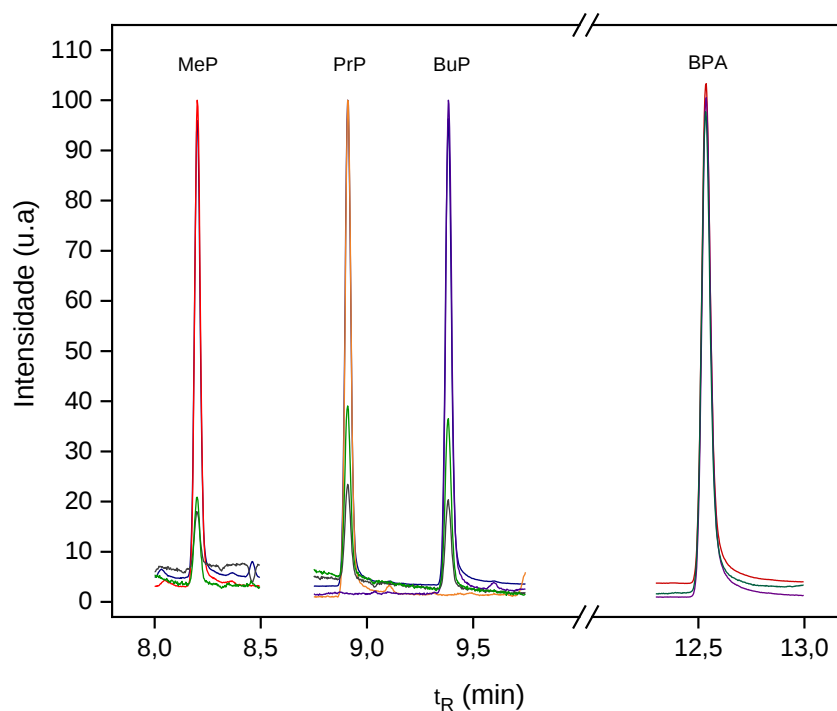
Quando a porção aquosa da amostra, obtida pela filtração do lodo, foi submetida à análise, observou-se a presença de picos em determinadas regiões próxima aos analitos, conforme ilustrado na Figura 32. Ao comparar os íons identificados nessa etapa com aqueles selecionados no modo SIM, verificou-se a ausência dos analitos na amostra. Isso foi confirmado pela falta de coincidência nos tempos de retenção e na ausência da combinação de íons característicos dos compostos de interesse.

Figura 32. Cromatograma do lodo obtido no modo SIM para os analitos, utilizando um volume de 20 μL de amostra.



A extração dos analitos pôde ser confirmada a partir da análise do cromatograma resultante da injeção de 20,0 μL da diluição do eluato em ACN, conforme ilustrado na Figura 33. Dentro dos intervalos de t_R especificados, todos os íons associados aos analitos estavam presentes, validando assim a eficácia do método proposto.

Figura 33. Cromatograma obtido após a DLLME dos analitos fortificados na concentração de 415 $\mu\text{g L}^{-1}$ (MeP) e 830 $\mu\text{g L}^{-1}$ (PrP, BuP e BPA) em lodo.



A utilização das janelas, delimitadas a partir de resultados anteriores, desempenhou um papel importante na melhoria da qualidade da resposta analítica. Essas janelas foram usadas com o intuito de otimizar a precisão da análise, eliminando possíveis interferências que poderiam comprometer a integridade dos resultados. Este enfoque reforça a robustez do método e fortalece a confiabilidade dos dados obtidos, proporcionando uma base para interpretação e conclusões precisas.

Outros procedimentos de preparo de amostra são utilizados com o mesmo propósito, no entanto, a adoção da DLLME neste estudo destacou-se como uma alternativa à redução no consumo de solventes e de amostra, além de ser eficiente quando associada à técnica de GC-MS. Outras investigações que empregaram a DLLME frequentemente apresentam resultados eficazes na recuperação dos analitos, especialmente quando combinados com técnicas cromatográficas, denotando a relevância da união de técnicas analíticas para a melhor combinação de resultados.

Apesar da filtração do lodo utilizando filtro de papel ser visualmente eficiente, uma quantidade residual de material particulado permanece na amostra. Entretanto, a utilização do pirolisador eliminou a necessidade de etapas adicionais de filtração, uma vez que o equipamento suporta a injeção direta de amostras sem qualquer pré-tratamento. Essa característica agiliza significativamente o processo experimental, representando uma inovação no emprego Py-GC-MS para a injeção de amostras líquidas, como proposto neste trabalho. Essa abordagem não apenas simplifica o procedimento, mas também contribui para uma execução mais eficiente e rápida do experimento.

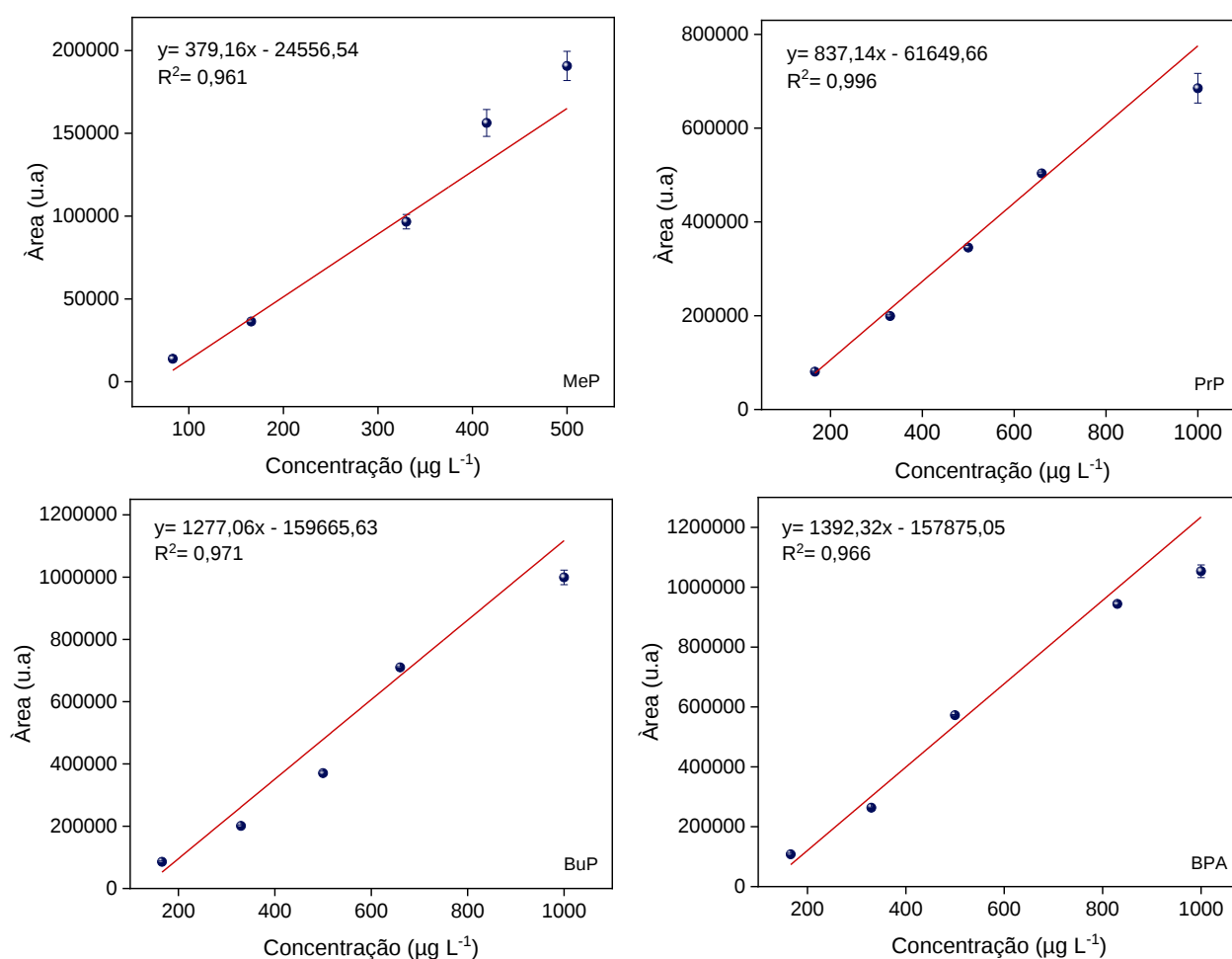
4.6. Avaliação das figuras de mérito do método desenvolvido

A aplicação dos HDES, na etapa de preparo de amostra utilizando o Py-GC-MS, foi validada em amostra de lodo doméstico filtrado, levando em consideração os parâmetros de desempenho descritos pelo INMETRO [1] como a linearidade, LOD ($S/N = 3$) e LOQ ($S/N=10$), precisão e recuperação [47].

Os limites de detecção (LOD) e limite de quantificação (LOQ) foram obtidos, como mostrado na Tabela 14, a partir da avaliação da relação sinal-

ruído do cromatograma do branco da amostra. A linearidade foi avaliada em solvente (MeOH) e em amostra de lodo filtrado fortificada com os analitos. Foram usados 5 calibrantes para gerar a curva analítica, em triplicata, tendo como resposta analítica a intensidade do sinal do íon $m/z = 121$ para os parabenos e do íon $m/z = 213$ para o bisfenol A. A faixa de concentração utilizada para o MeP foi de 83 a 500 $\mu\text{g L}^{-1}$, e para os demais analitos de 166-1000 $\mu\text{g L}^{-1}$. Na Figura 34, é possível observar as informações obtidas nessa etapa.

Figura 34. Estudo da linearidade do método proposto para os analitos após a etapa da DLLME.



A recuperação percentual (Rec %) foi analisada para determinar as perdas no processo extrativo dos analitos na matriz estudada [47], [59]. Como demonstrado na Tabela 14, foi possível observar que as recuperações médias obtidas foram satisfatórias, com valores acima de 90%. Esse valor foi derivado

da comparação entre as curvas analíticas obtidas antes e depois da aplicação da técnica DLLME.

Tabela 14. Figuras de mérito do método analítico proposto para aplicação em amostras de lodo fortificada com MeP, PrP, BuP e BPA.

Analito	Faixa linear ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Equação linear	R ²	LOD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LOQ ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Rec %*	CV%*
MeP	83-500	$y = 379,2X - 24,5 \times 10^3$	0,9606	25,0	83,0	99,32	6,66
PrP	166-1000	$y = 837,1X - 61,6 \times 10^3$	0,9958	50,0	166	98,25	8,83
BuP	166-1000	$y = 1277X - 15,9 \times 10^4$	0,9706	50,0	166	97,43	10,50
BPA	166-1000	$y = 1392,3X - 15,7 \times 10^4$	0,9660	50,0	166	92,38	3,07

* Concentração alta ($\mu\text{g L}^{-1}$): MeP(415), PrP (830), BuP (830), BPA (830)

Tabela 15. Figuras de mérito do método analítico proposto feitas em solvente (MeOH) fortificada com MeP, PrP, BuP e BPA.

Analyte	Linear range ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Linear equation	R ²	LOD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LOQ ($\mu\text{g L}^{-1}$)	CV%*
MeP	83-500	$y = 123,28x + 772,4$	0,9979	25,0	83,0	6,96
PrP	166-1000	$y = 53,982x + 231,0$	0,9876	50,0	166	11,33
BuP	166-1000	$y = 46,847x + 2678$	0,9887	50,0	166	13,06
BPA	166-1000	$y = 106,7x - 5265$	0,9918	50,0	166	31,59

* Concentração alta ($\mu\text{g L}^{-1}$): MeP(415), PrP (830), BuP (830), BPA (830)

O desempenho analítico da DLLME foi analisado comparando os valores do coeficiente angular da curva em MeOH, e a fortificação dos analitos na amostra no mesmo nível de concentração, feita no eluato, após a DLLME. Os valores obtidos para a inclinação da curva analítica na DLLME, apresentou valores de aproximadamente três a quatro vezes maiores em relação ao solvente, como é possível observar na Tabela 15, o que indica também a eficiência do método proposto.

De acordo com o que foi abordado na seção anterior, o parâmetro de eficiência do processo (PE) foi aplicado, resultando em valores de 112 % MeP, 105 % para o PrP, 102 % para o BuP e 106 % para o BPA. Esses valores indicam a adequada execução do procedimento, demonstrando a consistência e precisão na quantificação dos compostos de interesse.

Os coeficientes de variação (CV%) calculados a partir da análise dos pontos baixos, médios e altos de cada analito, conforme apresentado na Tabela 14, demonstraram valores satisfatórios em comparação com os métodos oficiais. Essa concordância reforça a precisão do método empregado, indicando que as variações nos resultados foram consistentemente nas diferentes concentrações analisadas. Essa observação contribui para a validação da confiabilidade do procedimento analítico adotado.

Na Tabela 16, os valores de CV% são apresentados para precisão inter-dia e intra-dia feita para a DLLME. Na avaliação de repetibilidade intra-dia, constata-se uma baixa variação nos quatro analitos, em três diferentes níveis de concentração ao serem avaliados em um curto intervalo de tempo. Essa resposta demonstrou ser apropriada em comparação com os parâmetros estabelecidos, em que o valor aceitável está em torno de 15% [47].

No entanto, ao analisar a precisão inter-dia, observou-se um aumento significativo do CV% em concentrações mais elevadas. Esse aumento sugere uma maior variabilidade e heterogeneidade nos dados quando consideramos intervalos de tempo mais extensos entre as análises.

Tabela 16. Parte 1 - Resultados referentes a precisão em relação a repetibilidade intra-dia e precisão inter-dia do método proposto usado HDES e DLLME.

Intra-dia									
Analitos	CV% (período - manhã)			CV% (período - tarde)			CV% entre os períodos		
	Concentração			Concentração			Concentração		
	Baixa	Média	Alta	Baixa	Média	Alta	Baixa	Média	Alta
MeP	0,870	0,400	3,73	1,54	0,470	8,22	1,12	0,440	6,41
PrP	0,120	7,86	2,05	1,43	4,10	1,05	1,09	5,64	1,46
BuP	1,94	4,34	2,43	1,76	4,66	3,76	1,71	4,08	2,83
BPA	1,30	0,660	0,820	2,99	0,260	1,62	2,23	0,470	1,20

*Concentração baixa ($\mu\text{g L}^{-1}$): MeP(83), PrP (166), BuP (166), BPA (166) ; Concentração média ($\mu\text{g L}^{-1}$): MeP(250), PrP (500), BuP (500), BPA (500) ; Concentração alta ($\mu\text{g L}^{-1}$): MeP(415), PrP (830), BuP (830), BPA (830)

Tabela 16. Parte 2- Resultados referentes a precisão em relação a repetibilidade intra-dia e precisão inter-dia do método proposto usado HDES e DLLME.

Inter-dia									
Analitos	CV% (período - tarde)			CV% (período - tarde)			CV% entre os períodos		
	Concentração			Concentração			Concentração		
	Baixa	Média	Alta	Baixa	Média	Alta	Baixa	Média	Alta
MeP	1,54	0,470	8,22	1,21	2,32	5,01	1,26	1,51	11,09
PrP	1,43	4,10	1,05	1,16	5,69	9,90	1,55	4,71	13,65
BuP	1,76	4,66	3,76	2,34	4,20	10,70	1,85	4,01	15,83
BPA	2,99	0,26	1,62	0,73	0,77	33,47	2,40	0,64	23,89

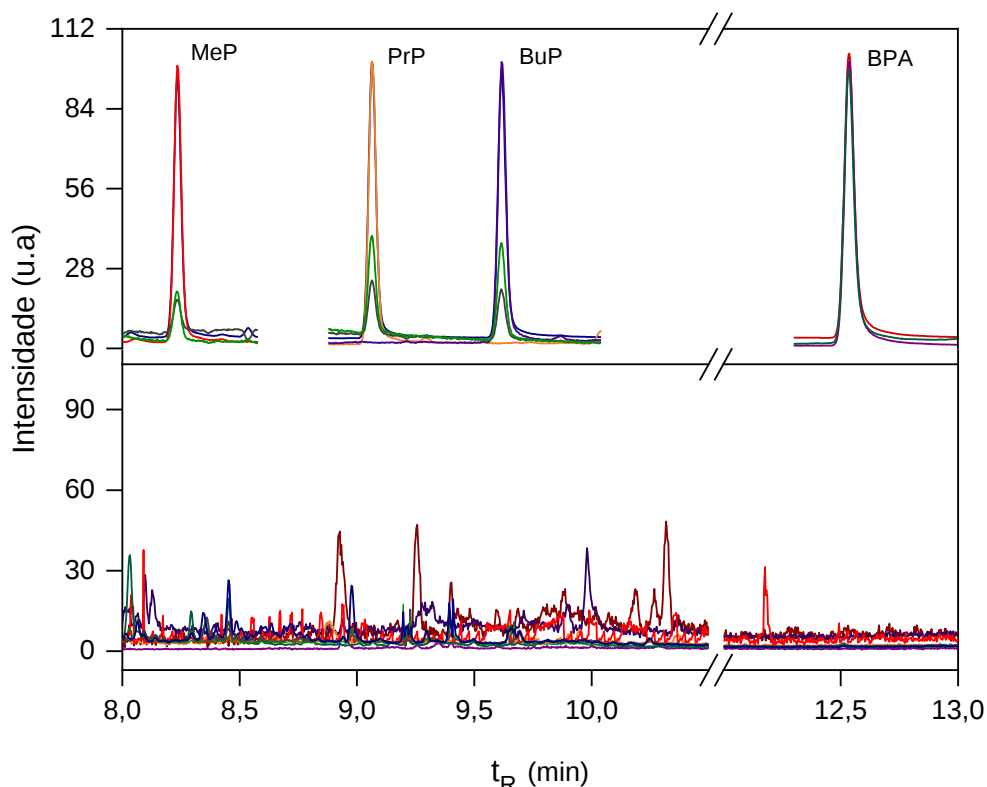
*Concentração baixa ($\mu\text{g L}^{-1}$): MeP(83), PrP (166), BuP (166), BPA (166) ; Concentração média ($\mu\text{g L}^{-1}$): MeP(250), PrP (500), BuP (500), BPA (500) ; Concentração alta ($\mu\text{g L}^{-1}$): MeP(415), PrP (830), BuP (830), BPA (830)

A precisão inter-dia, em relação ao BPA, revelou um valor que ultrapassou os 15%, situando-se fora dos limites aceitáveis estabelecidos pelas normas oficiais. Essa variação significativa pode ser atribuída, em grande parte, à falta de estabilidade observada no Bisfenol A ao longo dos diferentes dias de análise.

Esse comportamento também pode ser observado no estudo descrito por Martín [73], na qual a acurácia em dias intercalados aumentou de 4% para 15%. Essa instabilidade pode resultar em variações nos resultados obtidos em dias consecutivos, comprometendo a confiabilidade desses dados. Essa constatação ressalta a importância de considerar cuidadosamente a estabilidade dos analitos ao longo do tempo ao avaliar a precisão inter-dia, visando assegurar resultados mais robustos e confiáveis nas análises.

A avaliação da seletividade foi conduzida para verificar possíveis interferentes presentes na amostra. Ao analisar o cromatograma da amostra de lodo, conforme ilustrado na Figura 35, observou-se a presença de sinais positivos para os íons que correspondem aos analitos. Contudo, a presença desses sinais na amostra de lodo não representou uma interferência, contendo elementos no mesmo t_R e com os mesmos íons fragmentos. Cabe destacar que a intensidade do sinal da amostra de lodo não passou de 45,96 para o íon com $m/z = 121$ e 35,83 para o íon $m/z = 213$. Isso se deve ao fato de que os sinais obtidos estão predominantemente relacionados a outros compostos complexos presentes na amostra, e não aos analitos de interesse.

Figura 35. Comparação entre os cromatogramas da amostra de lodo obtidos a partir do a) eluato da DLLME e b) do lodo sem fortificar.



A confirmação dessa informação foi obtida através da observação de dados que caracterizam os analitos, como o tempo de retenção e os íons específicos de cada um. Ao comparar o cromatograma obtido após a DLLME com o cromatograma do lodo, foi constatado que o método demonstrou seletividade exclusivamente para os compostos de interesse.

Durante os tempos de retenção analisados, somente o sinal correspondente aos analitos, contendo os íons específicos relacionados, foi identificado. Isso indica que não foram identificados interferentes significativos durante a análise. A seletividade do método para os compostos de interesse é evidenciada pela ausência de sinais ou presença mínima de sinais de outras substâncias que poderiam interferir nos resultados.

Essa constatação fortalece a confiança na capacidade do método em isolar e detectar seletivamente os analitos desejados, fornecendo assim resultados mais precisos e confiáveis na análise das amostras de lodo.

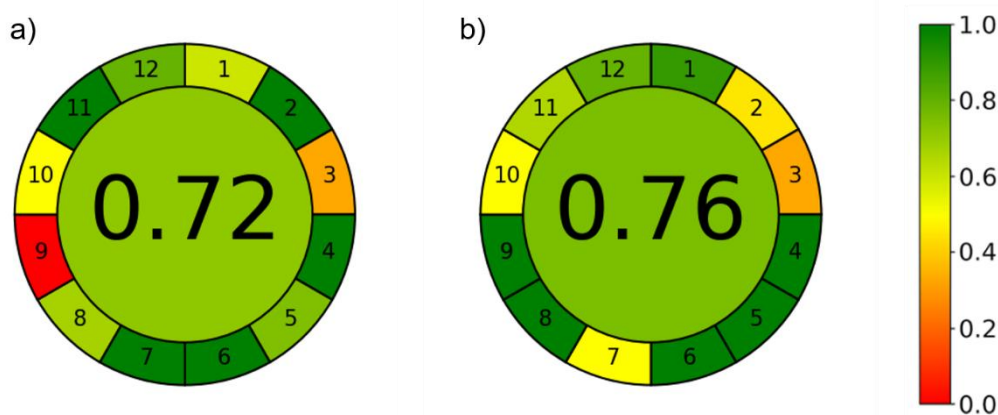
Dessa forma, a seletividade do método demonstrou ser eficaz, uma vez que os sinais observados foram atribuídos principalmente a componentes

específicos da matriz, não comprometendo a detecção e a quantificação dos compostos de interesse.

4.7. Avaliação da GREENness Analítica (AGREE) para o método proposto

Ao empregar a abordagem metodológica AGREE, foi possível identificar que alguns critérios apresentam divergência em relação aos princípios da química analítica verde. Na Figura 36, estão representados os resultados da análise AGREE para o método e para o preparo de amostra.

Figura 36. Resultados da análise AGREE para a) método b) preparo de amostra.



Ao realizar uma análise abrangente da pontuação final, destaca-se uma prevalência da cor verde, sinalizando que a pontuação estabelecida em 0,72 para o método está alinhada às expectativas de métodos considerados menos impactantes ao meio ambiente. Os critérios 3 e 10 receberam pontuações mais baixas devido ao uso de solventes na diluição do HDES, como a ACN, para a execução das análises. O princípio 9 avaliou o consumo energético do GC-MS, que possui um valor elevado em comparação ao GC que utiliza outros tipos de detectores.

Para a etapa de preparo da amostra, a pontuação alcançada foi de 0,76, indicando um impacto ambiental relativamente baixo. No entanto, os critérios 2, 3, 7 e 10 destacados em amarelo receberam pontuações mais baixas devido à quantidade de amostra utilizada, à produção de resíduos após o processo de

extração e à falta de utilização de reagentes provenientes de fontes renováveis em todo o procedimento.

De maneira geral, ambos os processos demonstraram ser eficazes na minimização dos impactos ambientais, conforme avaliação realizada pelo método AGREE. Este resultado ressalta a importância de se considerar o panorama global da avaliação dos 12 princípios, uma vez que a otimização de desses critérios pode compensar eventuais discordâncias individuais, visando aumentar a eficiência e a sustentabilidade do método ao longo do tempo.

Nesse contexto, a utilização dos HDES em conjunto com técnicas miniaturizadas de preparo de amostras, como a DLLME, são uma alternativa valiosa para promover práticas analíticas mais sustentáveis.

4.8. Análise comparativa entre o método sugerido e outras abordagens mencionadas na literatura

Em outros estudos que empregam a DLLME, foram realizadas a avaliação da recuperação (Rec %) em diversas amostras, incluindo amostras humanas e alimentos. A Tabela 17 apresenta uma análise de algumas dessas amostras. De acordo com os valores apresentados, a eficácia da DLLME mostrou-se consistente em todas as amostras, semelhante ao comportamento observado no lodo, tendo sido alcançados valores elevados de recuperação, fortalecendo, assim, a validade dessa afirmação.

Um dos parâmetros importantes para a implementação da DLLME está na utilização de volumes reduzidos empregados durante o processo. Na Tabela 18, encontram-se detalhados os valores específicos utilizados para a DLLME em estudo da literatura. Esses valores são consideravelmente baixos, refletindo a premissa fundamental desse método. No âmbito deste trabalho, os volumes empregados foram ainda menores em comparação com os descritos na literatura existente.

Tabela 17. Comparação entre o método desenvolvido neste trabalho e os obtidas na literatura com a aplicação da DLLME para determinação do MeP, PrP, BuP e BPA em diferentes amostras.

Analito	LOQ (µg L ⁻¹)	Rec (%)	Amostra	Técnica	Ref.
MeP	0,0200	89,6	Placenta	GC-MS/MS	[74]
	5,20	120	Cabelo	LC-MS/MS	[73]
	0,91	82,0	Esgoto	GC-FID	[75]
PrP	0,0200	101	Placenta	GC-MS/MS	[74]
	2,60	99,0	Cabelo	LC-MS/MS	[73]
	0,470	91,0	Esgoto	GC-FID	[75]
BuP	0,0200	100	Placenta	GC-MS/MS	[74]
	0,440	100	Esgoto	GC-FID	[75]
BPA	0,0200	112	Placenta	GC-MS/MS	[74] [73] [76]
	6,10	77,0	Cabelo	LC-MS/MS	
	0,0120	100	Água de torneira, garrafa e rio	HPLC-FL	
	--	96,5	Mel	HPLC-FL	
	--	95,7	Xarope de abacaxi	HPLC-FL	
	--	93,9	Leite em pó	HPLC-FL	
Método desenvolvido neste estudo					
MeP	83,0	99,3	Esgoto doméstico	Py-GC-MS	--
PrP	166	98,2	Esgoto doméstico	Py-GC-MS	
BuP	166	97,4	Esgoto doméstico	Py-GC-MS	
BPA	166	92,4	Esgoto doméstico	Py-GC-MS	

Tabela 18. Parâmetros avaliados na DLLME e avaliação da sustentabilidade do método.

Volume de solvente extrator (mL)	Volume de solvente dispersor (mL)	Tempo de extração	Métricas verdes	DOE	Ref.
0,0300 de 1-undecanol	1,00 de acetona	---	---	Sim	[76]
1,20 de TCM*	---	30 s	---	Sim	[74]
0,500 de 1-undecanol	0,500 de metanol	10 min	---	---	[73]
0,800 de TCM	0,820 de acetona	20 s	---	Sim	[77]
0,200 de n-hexane	---	11 min	---	---	[78]
1,50 de acetona	0,500 de triclorometano	10 s	---	---	[79]
Método desenvolvido neste estudo					
0,300 de HDES	0,350 de acetonitrila	20 s	AGREE	Sim	

*TCM: acetonitrila, acetato de etila e triclorometano

Em todos os estudos utilizados na comparação, observou-se a ausência do emprego das ferramentas relacionadas à métrica verde. A aplicação dessa avaliação é importante pois promove meios de tornar os experimentos mais

sustentáveis nas práticas atuais. Muitos desses trabalhos utilizaram algum tipo de planejamento ou otimização na etapa de extração.

De modo geral o método desenvolvido neste trabalho se mostrou eficiente utilizando volumes menores de solventes, o que está de acordo com as premissas da GAC. Embora os LOQ sejam maiores que os avaliados da literatura, é importante levar em consideração a proposta inovadora de utilização do pirolisador, que possui influência em possíveis perdas dos analitos na introdução da amostra.

5. CONCLUSÃO

A formação das misturas eutéticas foi confirmada a partir de análises termoanalíticas, avaliando os pontos de fusão específicos por DSC, e pela identificação de grupos funcionais referentes a formação dos HDES, por FTIR.

A partir das caracterizações físico-químicas dos solventes investigados, como a viscosidade e densidade, foi observado que os três HDES mantiveram suas propriedades estáveis pelo período de um ano. As análises por FTIR, realizadas durante esse período, corroboram com esse estudo de estabilidade, fornecendo informações sobre a sua composição molecular ao longo do tempo. Nos testes preliminares, para as otimizações da etapa de preparo de amostra, surgiram desafios quanto a utilização de solvente contendo DecA e DoDecA. Isso ocorreu, em grande parte, à fácil volatilização de DL-mentol durante a análise por Py-GC-MS, cuja intensidade superou a dos analitos. Essa limitação prejudicou a obtenção de conclusões claras nos cromatogramas quando esses dois solventes foram empregados.

Dentre os três HDES investigados, destaca-se que apenas o DL-mentol:AcA foi utilizado na etapa de preparo de amostra, no qual foi evidente a sua capacidade de pré-concentração e extração dos analitos, sendo necessário uma pequena quantidade do solvente para a realização da DLLME. Apenas a mistura DL-mentol:AcA foi utilizada para a validação do método. Nessa fase, resultados promissores foram alcançados, com valores de recuperação superiores a 90% para os analitos. Além disso, a confirmação da seletividade do método aplicado reforça a robustez e a confiabilidade das análises realizadas com esse solvente específico. Esses resultados validam a escolha do DL-

mentol:AcA como solvente de destaque, evidenciando seu potencial para aplicações futuras em processos analíticos. Portanto, com base nos resultados obtidos, conclui-se que a aplicação do HDES proposto neste estudo é eficiente para a determinação dos analitos selecionados, assim como o método desenvolvido no Py-GC-MS.

6. PERSPECTIVAS

As pesquisas sobre a utilização de HDES como agentes extratores de contaminantes emergentes, empregando a técnica Py-GC-MS para análise de amostras de lodo, representam uma área de pesquisa ainda pouco abordada na literatura científica. Portanto, esta pesquisa representa uma oportunidade para aprofundar o conhecimento acerca da problemática da incidência de compostos considerados perigosos em matrizes aquáticas, bem como avaliar a eficácia e aplicação desses solventes no monitoramento desses contaminantes, através de técnicas de extração.

A aplicação da abordagem desenvolvida neste estudo pode contribuir para o avanço de métodos analíticos mais eficazes e sensíveis na detecção de contaminantes em amostras ambientais. Além disso, abre caminho para o desenvolvimento de novos HDES capazes de monitorar outras classes de contaminantes. Essa perspectiva mais ampla permite aprimorar as práticas de gestão e monitoramento ambiental, oferecendo novas ferramentas para a mitigação dos impactos ambientais. A utilização do AGREE para avaliar a sustentabilidade do método possibilita diretamente a busca por novas abordagens e otimização do método analítico, visando atender de forma crescente às demandas da GAC.

Como perspectivas espera-se aplicar os HDES, DL-mentol:DecA e DL-mentol:DoDecA na técnica de DLLME, além de explorar o desenvolvimento de novos solventes, como os magnéticos para a extração de diferentes compostos em diversas amostras.

7. REFERÊNCIAS

- [1] C. Pironti, M. Ricciardi, A. Proto, P. M. Bianco, L. Montano, and O. Motta, "Endocrine-disrupting compounds: An overview on their occurrence in the aquatic environment and human exposure," *Water (Switzerland)*, vol. 13, no. 10. MDPI AG, May 02, 2021. doi: 10.3390/w13101347.
- [2] S. D. Richardson and T. A. Ternes, "Water Analysis: Emerging Contaminants and Current Issues," *Analytical Chemistry*, vol. 90, no. 1. American Chemical Society, pp. 398–428, Jan. 02, 2018. doi: 10.1021/acs.analchem.7b04577.
- [3] D. S. Chormey *et al.*, "Deep eutectic solvents for the determination of endocrine disrupting chemicals," *Talanta*, vol. 268, Feb. 2024, doi: 10.1016/j.talanta.2023.125340.
- [4] S. Sauvé and M. Desrosiers, "A review of what is an emerging contaminant," *Chemistry Central Journal*, vol. 8, no. 1. Feb. 26, 2014. doi: 10.1186/1752-153X-8-15.
- [5] C. Monneret, "What is an endocrine disruptor?," *Comptes Rendus - Biologies*, vol. 340, no. 9–10. Elsevier Masson SAS, pp. 403–405, Sep. 01, 2017. doi: 10.1016/j.crv.2017.07.004.
- [6] C. Mahugo-Santana, Z. Sosa-Ferrera, M. E. Torres-Padrón, and J. J. Santana-Rodríguez, "Application of new approaches to liquid-phase microextraction for the determination of emerging pollutants," *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, vol. 30, no. 5. pp. 731–748, May 2011. doi: 10.1016/j.trac.2011.01.011.
- [7] A. Mizukawa, "Avaliação de contaminantes emergentes na água e sedimento na bacia do Alto Iguaçu/PR/PR. Tese de Doutorado. Universidade Federal do Paraná, Setor de Tecnologia, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Recursos Hídricos e Ambiental. CURITIBA 2016."
- [8] C. C. Montagner, C. Vidal, and R. D. Acayaba, "Contaminantes emergentes em matrizes aquáticas do Brasil: Cenário atual e aspectos analíticos, ecotoxicológicos e regulatórios," *Química Nova*, vol. 40, no. 9. Sociedade Brasileira de Química, pp. 1094–1110, Sep. 01, 2017. doi: 10.21577/0100-4042.20170091.
- [9] C. M. E. Pompei, L. C. Campos, B. F. da Silva, J. C. Fogo, and E. M. Vieira, "Occurrence of PPCPs in a Brazilian water reservoir and their removal efficiency by ecological filtration," *Chemosphere*, vol. 226, pp. 210–219, Jul. 2019, doi: 10.1016/j.chemosphere.2019.03.122.
- [10] C. A. Galinaro, F. M. Pereira, and E. M. Vieira, "Determination of parabens in surface water from Mogi Guaçu River (São paulo, Brazil) using dispersive liquid-liquid microextraction based on low density solvent and LC-DAD," *J Braz Chem Soc*, vol. 26, no. 11, pp. 2205–2213, Nov. 2015, doi: 10.5935/0103-5053.20150206.
- [11] G. Reichert, A. Mizukawa, J. Antonelli, F. de Almeida Brehm Goulart, T. C. Filipe, and J. C. Rodrigues de Azevedo, "Determination of Parabens, Triclosan, and Lipid Regulators in a Subtropical Urban River: Effects of Urban Occupation," *Water Air Soil Pollut*, vol. 231, no. 3, Mar. 2020, doi: 10.1007/s11270-020-04508-y.

- [12] M. M. dos Santos, F. de A. Brehm, T. C. Filippe, H. G. Knapik, and J. C. R. de Azevedo, "Ocorrência e avaliação de risco de parabenos e triclosan em águas superficiais na região sul do Brasil: Um problema de poluentes emergentes em um país emergente," *Revista Brasileira de Recursos Hídricos*, vol. 21, no. 3, pp. 603–617, 2016, doi: 10.1590/2318-0331.011616018.
- [13] J. Feng, J. Zhao, N. Xi, W. Guo, and J. Sun, "Parabens and their metabolite in surface water and sediment from the Yellow River and the Huai River in Henan Province: Spatial distribution, seasonal variation and risk assessment," *Ecotoxicol Environ Saf*, vol. 172, pp. 480–487, May 2019, doi: 10.1016/j.ecoenv.2019.01.102.
- [14] A. N. do Á. (ANA) Brasil, "BRASIL. Agência Nacional de Águas. ODS 6 no Brasil: visão da ANA sobre os indicadores– Brasília: 2019."
- [15] S. N. de I. sobre S. (SNIS) Brasil, "BRASIL. Ministério do Desenvolvimento Regional. Secretaria Nacional de Saneamento. SNIS-AE de 2019."
- [16] BRASIL. Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária., *BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Vigilância e controle da qualidade da água para consumo humano, Brasília, 2006. 2006.*
- [17] M. M. Maroneze, L. Q. Zepka, J. G. Vieira, M. I. Queiroz, and E. Jacob-Lopes, "A tecnologia de remoção de fósforo: Gerenciamento do elemento em resíduos industriais," *Revista Ambiente e Agua*, vol. 9, no. 3, pp. 445–458, 2014, doi: 10.4136/1980-993X.
- [18] C. N. do M. A. (CONAMA)-R. n° 430 Brasil, "BRASIL. Ministério do Meio Ambiente (MMA). Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA). Resolução CONAMA N° 430, de 13/05/2011. Dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução no 357, de 17 de março de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente-CONAMA."
- [19] O. M. Rodriguez-Narvaez, J. M. Peralta-Hernandez, A. Goonetilleke, and E. R. Bandala, "Treatment technologies for emerging contaminants in water: A review," *Chemical Engineering Journal*, vol. 323. Elsevier B.V., pp. 361–380, 2017. doi: 10.1016/j.cej.2017.04.106.
- [20] C. B. Godiya and B. J. Park, "Removal of bisphenol A from wastewater by physical, chemical and biological remediation techniques. A review," *Environmental Chemistry Letters*, vol. 20, no. 3. Springer Science and Business Media Deutschland GmbH, pp. 1801–1837, Jun. 01, 2022. doi: 10.1007/s10311-021-01378-6.
- [21] Y. An and K. H. Row, "Evaluation of Menthol-Based Hydrophobic Deep Eutectic Solvents for the Extraction of Bisphenol A from Environment Water," *Anal Lett*, vol. 54, no. 9, pp. 1533–1545, 2021, doi: 10.1080/00032719.2020.1811716.
- [22] S. A. H. Shah and S. Asman, "Evaluation of deep eutectic solvent as a new monomer for molecularly imprinted polymers for removal of bisphenol A," *Journal of Polymer Research*, vol. 30, no. 6, Jun. 2023, doi: 10.1007/s10965-023-03581-1.
- [23] B. S. Seetha, S. Ganneru, R. Thati, and M. K. R. Mudiam, "Experimental design of non-ionic hydrophobic DES-DLLME coupled with injector port silylation-GC–

- MS/MS for the quantitative determination of 13 bisphenols in food samples,” *Food Chem*, vol. 405, Mar. 2023, doi: 10.1016/j.foodchem.2022.134778.
- [24] M. Marchel, M. P. Rayaroth, C. Wang, L. Kong, J. A. Khan, and G. Boczkaj, “Hydrophobic (deep) eutectic solvents (HDESs) as extractants for removal of pollutants from water and wastewater – A review,” *Chemical Engineering Journal*, vol. 475. Elsevier B.V., Nov. 01, 2023. doi: 10.1016/j.cej.2023.144971.
- [25] C. Liao, F. Liu, and K. Kannan, “Bisphenol S, a new bisphenol analogue, in paper products and currency bills and its association with bisphenol a residues,” *Environ Sci Technol*, vol. 46, no. 12, pp. 6515–6522, Jun. 2012, doi: 10.1021/es300876n.
- [26] H. Yamamoto *et al.*, “Aquatic toxicity and ecological risk assessment of seven parabens: Individual and additive approach,” *Science of the Total Environment*, vol. 410–411, pp. 102–111, Dec. 2011, doi: 10.1016/j.scitotenv.2011.09.040.
- [27] A. P. Abbott, G. Capper, D. L. Davies, H. L. Munro, R. K. Rasheed, and V. Tambyrajah, “Preparation of novel, moisture-stable, lewis-acidic ionic liquids containing quaternary ammonium salts with functional side chains,” *Chemical Communications*, vol. 1, no. 19, pp. 2010–2011, 2001, doi: 10.1039/b106357j.
- [28] M. A. R. Martins, S. P. Pinho, and J. A. P. Coutinho, “Insights into the Nature of Eutectic and Deep Eutectic Mixtures,” *J Solution Chem*, vol. 48, no. 7, pp. 962–982, Jul. 2019, doi: 10.1007/s10953-018-0793-1.
- [29] A. P. Abbott, G. Capper, D. L. Davies, R. K. Rasheed, and V. Tambyrajah, “Novel solvent properties of choline chloride/urea mixtures,” *Chemical Communications*, no. 1, pp. 70–71, 2003, doi: 10.1039/b210714g.
- [30] A. K. Dwamena, “Recent advances in hydrophobic deep eutectic solvents for extraction,” *Separations*, vol. 6, no. 1. MDPI Multidisciplinary Digital Publishing Institute, Mar. 01, 2019. doi: 10.3390/separations6010009.
- [31] L. Caldeirão, J. O. Fernandes, M. H. Gonzalez, H. T. Godoy, and S. C. Cunha, “A novel dispersive liquid-liquid microextraction using a low density deep eutectic solvent-gas chromatography tandem mass spectrometry for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in soft drinks,” *J Chromatogr A*, vol. 1635, Jan. 2021, doi: 10.1016/j.chroma.2020.461736.
- [32] Y. Li *et al.*, “Green hydrophobic deep eutectic solvents as low-viscosity and efficient lubricants,” *Tribol Int*, vol. 185, Jul. 2023, doi: 10.1016/j.triboint.2023.108531.
- [33] B. D. Ribeiro, C. Florindo, L. C. Iff, M. A. Z. Coelho, and I. M. Marrucho, “Menthol-based eutectic mixtures: Hydrophobic low viscosity solvents,” *ACS Sustain Chem Eng*, vol. 3, no. 10, pp. 2469–2477, Sep. 2015, doi: 10.1021/acssuschemeng.5b00532.
- [34] Q. Zhang, K. De Oliveira Vigier, S. Royer, and F. Jérôme, “Deep eutectic solvents: Syntheses, properties and applications,” *Chem Soc Rev*, vol. 41, no. 21, pp. 7108–7146, Oct. 2012, doi: 10.1039/c2cs35178a.
- [35] M. IONASHIRO, F. J. CAIRES, and D. J. C. GOMES, *Giolito: fundamentos da termogravimetria e análise térmica diferencial/calorimetria exploratória diferencial*, 2nd ed., vol. 1. Giz, 2014.

- [36] P. Makoś, E. Słupek, and J. Gębicki, "Hydrophobic deep eutectic solvents in microextraction techniques—A review," *Microchemical Journal*, vol. 152. Elsevier Inc., Jan. 01, 2020. doi: 10.1016/j.microc.2019.104384.
- [37] Verônica Calado and Douglas Montgomery, *Planejamento de experimentos usando o Statistica*, 1st ed. Rio de Janeiro: e-papers, 2003.
- [38] B. C. Y. Lee, M. S. Mahtab, T. H. Neo, I. H. Farooqi, and A. Khursheed, "A comprehensive review of Design of experiment (DOE) for water and wastewater treatment application - Key concepts, methodology and contextualized application," *Journal of Water Process Engineering*, vol. 47. Elsevier Ltd, Jun. 01, 2022. doi: 10.1016/j.jwpe.2022.102673.
- [39] S. Matta, M. M. Bhandi, K. Javaji, S. Misra, and M. K. R. Mudiam, "Chemometric assisted natural DES based VA-DLLME-LC-MS/MS method for the quantitative determination of Garcinol in biofluids/tissues: A practical application to pharmacokinetics and biodistribution studies," *J Pharm Biomed Anal*, vol. 235, Oct. 2023, doi: 10.1016/j.jpba.2023.115676.
- [40] G. B. Grecco *et al.*, "Application of experimental design for dispersive liquid–liquid microextraction optimization for metallic impurities determination in arnica infusion employing green solvents," *Journal of the Iranian Chemical Society*, vol. 20, no. 2, pp. 371–380, Feb. 2023, doi: 10.1007/s13738-022-02674-w.
- [41] E. R. Pereira Filho, *Planejamento Fatorial em Química: Maximizando a Obtenção de Resultados*. EdUFSCar, 2015.
- [42] M. L. Martins, E. G. Primel, S. S. Caldas, O. D. Prestes, M. B. Adaime, and R. Zanella, "Microextração Líquido-Líquido Dispersiva (DLLME): Fundamentos e aplicações," *Scientia Chromatographica*, vol. 4, no. 1, pp. 29–45, 2012, doi: 10.4322/sc.2012.004.
- [43] EPA, "U.S. Environmental Protection Agency-EPA. Office of Water. Method 1698: Steroids and Hormones in Water, Soil, Sediment, and Biosolids by HRGC/HRMS. EPA-821-R-08-003. December, 2007., 2007. [Online]. Available: <http://www.epa.gov/waterscience>
- [44] M. Rezaee, Y. Assadi, M. R. Milani Hosseini, E. Aghaee, F. Ahmadi, and S. Berijani, "Determination of organic compounds in water using dispersive liquid-liquid microextraction," *J Chromatogr A*, vol. 1116, no. 1–2, pp. 1–9, May 2006, doi: 10.1016/j.chroma.2006.03.007.
- [45] Sergiane Souza Caldas, Fábio Ferreira Gonçalves, Ednei Gilberto Primel, Osmar Damian Prestes, and Manoel Leonardo Martins e Renato Zanella, "Principais técnicas de preparo de amostra para a determinação de resíduos de agrotóxicos em água por cromatografia líquida com detecção por arranjo de diodos e por espectrometria de massas," *Quim Nova*, vol. 34, pp. 1604–1617, 2011.
- [46] M. L. Martins, E. G. Primel, S. S. Caldas, O. D. Prestes, M. B. Adaime, and R. Zanella, "Microextração Líquido-Líquido Dispersiva (DLLME): Fundamentos e aplicações," *Scientia Chromatographica*, vol. 4, no. 1, pp. 29–45, 2012, doi: 10.4322/sc.2012.004.

- [47] ANVISA, “Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária-ANVISA. Ministério do Meio Ambiente (MMA). RDC nº 166, de 24/07/2017. Dispõe sobre a validação de métodos analíticos e dá outras providências.”
- [48] P. T. Anastas, “Green Chemistry and the role of analytical methodology development,” *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, vol. 29, no. 3. CRC Press Inc, pp. 167–175, 1999. doi: 10.1080/10408349891199356.
- [49] J. Namieśnik, “Green analytical chemistry - Some remarks”, *Journal of Separation Science*, 24(2), 151–153.2001. doi:10.1002/1615-9314(20010201)24:2<151:aid-jssc151>3.0.co;2-4
- [50] S. Armenta, S. Garrigues, and M. de la Guardia, “Green Analytical Chemistry,” *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, vol. 27, no. 6, pp. 497–511, Jun. 2008, doi: 10.1016/j.trac.2008.05.003.
- [51] A. Gałuszka, Z. Migaszewski, and J. Namieśnik, “The 12 principles of green analytical chemistry and the SIGNIFICANCE mnemonic of green analytical practices,” *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, vol. 50. Elsevier B.V., pp. 78–84, 2013. doi: 10.1016/j.trac.2013.04.010.
- [52] A. Gałuszka, Z. M. Migaszewski, P. Konieczka, and J. Namieśnik, “Analytical Eco-Scale for assessing the greenness of analytical procedures,” *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, vol. 37. pp. 61–72, Jul. 2012. doi: 10.1016/j.trac.2012.03.013.
- [53] M. Tobiszewski, M. Marć, A. Gałuszka, and J. Namieśnik, “Green chemistry metrics with special reference to green analytical chemistry,” *Molecules*, vol. 20, no. 6. MDPI AG, pp. 10928–10946, Jun. 01, 2015. doi: 10.3390/molecules200610928.
- [54] M. Tobiszewski, “Metrics for green analytical chemistry,” *Analytical Methods*, vol. 8, no. 15. Royal Society of Chemistry, pp. 2993–2999, Apr. 21, 2016. doi: 10.1039/c6ay00478d.
- [55] F. Pena-Pereira, W. Wojnowski, and M. Tobiszewski, “AGREE - Analytical GREENness Metric Approach and Software,” *Anal Chem*, vol. 92, no. 14, pp. 10076–10082, Jul. 2020, doi: 10.1021/acs.analchem.0c01887.
- [56] C. Florindo, N. V. Monteiro, B. D. Ribeiro, L. C. Branco, and I. M. Marrucho, “Hydrophobic deep eutectic solvents for purification of water contaminated with Bisphenol-A,” *J Mol Liq*, vol. 297, Jan. 2020, doi: 10.1016/j.molliq.2019.111841.
- [57] INMETRO, “BRASIL. Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia. DOQ-CGCRE-008. Orientação sobre validação de métodos analíticos. Junho, 2020.”
- [58] U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration-FDA, “U.S. Department of Health and Human Services. Food and Drug Administration-FDA. Analytical Procedures and Methods Validation for Drugs and Biologics Guidance for Industry. July, 2015,” 2015. [Online]. Available: <http://www.fda.gov/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/default.htm> and/or <http://www.fda.gov/BiologicsBloodVaccines/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/default.htm>

- [59] N. Mesquita Brito, O. DE Possidônio Amarante Junior, L. Polese, and M. Lúcia Ribeiro, "Validação de métodos analíticos: estratégia e discussão. Pesticidas: R.Ecotoxicol e Meio Ambiente, Curitiba, v. 13, p. 129-146, jan./dez. 2003."
- [60] Keyller Bastos Borges, Eduardo Costa de Figueiredo, and Maria Eugênia Costa Queiroz, *Preparo de amostras para análise de compostos orgânicos*, 1st ed. Rio de Janeiro: LTC, 2015.
- [61] F. Elahi *et al.*, "Ultrasound-assisted deep eutectic solvent-based liquid–liquid microextraction for simultaneous determination of Ni (II) and Zn (II) in food samples," *Food Chem*, vol. 393, Nov. 2022, doi: 10.1016/j.foodchem.2022.133384.
- [62] B. K. Matuszewski, M. L. Constanzer, and C. M. Chavez-Eng, "Strategies for the assessment of matrix effect in quantitative bioanalytical methods based on HPLC-MS/MS," *Anal Chem*, vol. 75, no. 13, pp. 3019–3030, Jul. 2003, doi: 10.1021/ac020361s.
- [63] M. Francisco, A. Van Den Bruinhorst, and M. C. Kroon, "Low-transition-temperature mixtures (LTTMs): A new generation of designer solvents," *Angewandte Chemie - International Edition*, vol. 52, no. 11, pp. 3074–3085, Mar. 11, 2013. doi: 10.1002/anie.201207548.
- [64] F. Machado, E. L. Lima, and C. Pinto, "Uma Revisão Sobre os Processos de Polimerização em Suspensão," 2007.
- [65] Y. Zhang *et al.*, "Lignin derived hydrophobic deep eutectic solvents as sustainable extractants," *J Clean Prod*, vol. 388, Feb. 2023, doi: 10.1016/j.jclepro.2022.135808.
- [66] D. L. Pavia, G. M. Lampman, G. S. Kriz, J. R. Vyvyan, "Introdução à Espectroscopia". Tradução da 4ª edição norte-americana. Cengage Learning, 2010.
- [67] C. Florindo, L. C. Branco, and I. M. Marrucho, "Development of hydrophobic deep eutectic solvents for extraction of pesticides from aqueous environments," *Fluid Phase Equilib*, vol. 448, pp. 135–142, Sep. 2017, doi: 10.1016/j.fluid.2017.04.002.
- [68] D. J. G. P. Van Osch *et al.*, "A Search for Natural Hydrophobic Deep Eutectic Solvents Based on Natural Components," *ACS Sustain Chem Eng*, vol. 7, no. 3, pp. 2933–2942, Feb. 2019, doi: 10.1021/acssuschemeng.8b03520.
- [69] M. K. AlOmar, M. A. Alsaadi, M. Hayyan, S. Akib, M. Ibrahim, and M. A. Hashim, "Allyl triphenyl phosphonium bromide based DES-functionalized carbon nanotubes for the removal of mercury from water," *Chemosphere*, vol. 167, pp. 44–52, Jan. 2017, doi: 10.1016/j.chemosphere.2016.09.133.
- [70] L. M. Parron, D. Heloisa De Freitas Muniz, and C. M. Pereira, "Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Embrapa Florestas Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento," 2011, [Online]. Available: www.cnpf.embrapa.br
- [71] "BRASIL. Ministério do Meio Ambiente (MMA). Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA). Resolução CONAMA Nº 357, de 17/03/2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências."

- [72] M. P. Marques *et al.*, "Evaluation of the efficiency of the treatment of the effluent of a stamping by chemical coagulation.," 2017.
- [73] J. Martín, J. L. Santos, I. Aparicio, and E. Alonso, "Analytical method for biomonitoring of endocrine-disrupting compounds (bisphenol A, parabens, perfluoroalkyl compounds and a brominated flame retardant) in human hair by liquid chromatography-tandem mass spectrometry," *Anal Chim Acta*, vol. 945, pp. 95–101, Nov. 2016, doi: 10.1016/j.aca.2016.10.004.
- [74] M. F. Fernández, V. Mustieles, B. Suárez, I. Reina-Pérez, A. Olivas-Martinez, and F. Vela-Soria, "Determination of bisphenols, parabens, and benzophenones in placenta by dispersive liquid-liquid microextraction and gas chromatography-tandem mass spectrometry," *Chemosphere*, vol. 274, Jul. 2021, doi: 10.1016/j.chemosphere.2021.129707.
- [75] M. M. Amin, M. Hashemi, K. Ebrahimpour, and A. Chavoshani, "Determination of parabens in wastewater and sludge in a municipal wastewater treatment plant using microwave-assisted dispersive liquid-liquid microextraction coupled with gas chromatography-mass spectrometry," *Environmental Health Engineering and Management*, vol. 6, no. 3, pp. 215–224, 2019, doi: 10.15171/EHEM.2019.24.
- [76] M. Sadeghi, Z. Nematifar, N. Fattahi, M. Pirsaeheb, and M. Shamsipur, "Determination of Bisphenol A in Food and Environmental Samples Using Combined Solid-Phase Extraction–Dispersive Liquid–Liquid Microextraction with Solidification of Floating Organic Drop Followed by HPLC," *Food Anal Methods*, vol. 9, no. 6, pp. 1814–1824, Jun. 2016, doi: 10.1007/s12161-015-0357-6.
- [77] I. Jiménez-Díaz *et al.*, "Determination of personal care products –benzophenones and parabens– in human menstrual blood," *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, vol. 1035, pp. 57–66, Nov. 2016, doi: 10.1016/j.jchromb.2016.09.035.
- [78] I. Notardonato, C. Protano, M. Vitali, B. Bhattacharya, and P. Avino, "A method validation for simultaneous determination of phthalates and bisphenol a released from plastic water containers," *Applied Sciences (Switzerland)*, vol. 9, no. 14, Jul. 2019, doi: 10.3390/app9142945.
- [79] M. L. de Oliveira, B. A. Rocha, V. C. de O. Souza, and F. Barbosa, "Determination of 17 potential endocrine-disrupting chemicals in human saliva by dispersive liquid-liquid microextraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry," *Talanta*, vol. 196, pp. 271–276, May 2019, doi: 10.1016/j.talanta.2018.12.067.

8. APÊNDICES

1.a. Tabela ANOVA do modelo de planejamento composto central (CCD) para a DLLME

ANOVA; R-sqr=0,77427; Adj.:48405; MS Residual=183821E7

	SS	df	MS	F	p
(1)HDES (µL)(L)	1,697309E+10	1	1,697309E+10	0,00923	0,926142
HDES (µL)(Q)	1,764295E+12	1	1,764295E+12	0,95978	0,359879
(2)ACN (µL)(L)	2,048753E+11	1	2,048753E+11	0,11145	0,748274
ACN (µL)(Q)	4,087976E+12	1	4,087976E+12	2,22388	0,179516
(3)Salting-out(L)	6,305330E+11	1	6,305330E+11	0,34301	0,576482
Salting-out(Q)	2,640960E+13	1	2,640960E+13	14,36694	0,006800
1L by 2L	2,026302E+12	1	2,026302E+12	1,10232	0,328648
1L by 3L	9,452495E+12	1	9,452495E+12	5,14220	0,057678
2L by 3L	5,008309E+12	1	5,008309E+12	2,72454	0,142801
Error	1,286754E+13	7	1,838220E+12		
Total SS	5,700457E+13	16			
