

Thais Rodrigues

Preparo e aplicação de líquido iônico magnético na microextração líquido-líquido dispersiva para a determinação de retardantes de chama polibromados presentes em amostras de lodo de esgoto.

Dissertação apresentada ao Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Química.

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

Co-orientador: Prof. Dr. Josias de Oliveira Merib

Araraquara

2023

R696p

Rodrigues, Thais

Preparo e aplicação de líquido iônico magnético na microextração líquido-líquido dispersiva para a determinação de retardantes de chama polibromados presentes em amostras de lodo de esgoto / Thais Rodrigues. -- Araraquara, 2023

81 f. : il., tabs.

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

Orientador: Paulo Clairmont Feitosa de Gomes

Coorientador: Josias de Oliveira Merib

1. Líquidos iônicos. 2. Pirolise. 3. Desreguladores endócrinos. 4. Preparo de amostras (Química). 5. Cromatografia a gás. 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 presente pesquisa apresenta contribuições significativas para o estudo de detecção e quantificação dos diferentes retardantes de chama polibromados (PBDEs), os quais são categorizados como compostos químicos emergentes (CECs) devido à sua elevada persistência ambiental. A miniaturização dos métodos de preparo de amostra tem como propósito a redução na quantidade de amostra utilizada, enquanto a incorporação do líquido iônico magnético (MIL) proporciona a diminuição do uso de solventes orgânicos e tempo de extração, aplicando os princípios da química verde e facilitando etapa de separação da fase extratora da amostra analisada. Ao realizar a associação da utilização do MIL com a técnica de cromatografia gasosa com detector de massas e pirolisador integrado ao sistema de injeção (Py-CG/MS), é possível lograr conhecimento acerca da compatibilidade entre estes temas para uma nova metodologia eficiente na extração, detecção e quantificação de PDDes em matrizes de ambientais.

Potential impact of this research

This research presents significant contributions to the study of detection and quantification of different polybrominated flame retardants (PBDEs), which are categorized as emerging chemical compounds (CECs) due to their high environmental persistence. The miniaturization of sample preparation methods aims to reduce the amount of sample used, while the incorporation of magnetic ionic liquid (MIL) leads to a decrease in the use of organic solvents and extraction time, applying the principles of green chemistry and facilitating the separation step of the extracting phase from the analyzed sample. By combining the use of MIL with the gas chromatographic technique with mass spectrometry detector and pyrolyzer integrated into the injection system (Py-GC-MS), it is possible to gain knowledge about the compatibility between these elements for a new efficient methodology in the extraction, detection, and quantification of PBDEs in environmental matrices.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA
DISSERTAÇÃO:

"Preparo e aplicação de líquido iônico magnético na microextração
líquido- líquido dispersiva para a determinação de retardantes de
chama polibromados presentes em amostras de lodo de esgoto."

AUTORA: THAÍS RODRIGUES

ORIENTADOR: PAULO CLAIRMONT FEITOSA DE LIMA GOMES

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



Documento assinado digitalmente

PAULO CLAIRMONT FEITOSA DE LIMA GOMES

Data: 15/12/2023 14:56:33-0300

Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

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



Documento assinado digitalmente

WANEISSA MELCHERT MATTOS

Data: 15/12/2023 15:23:04-0300

Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Profa. Dra. WANEISSA MELCHERT MATTOS (Participação Virtual)
Departamento de Ciências Exatas / Universidade de São Paulo/ Câmpus Piracicaba



Documento assinado digitalmente

CINTIA DUARTE DE FREITAS MILAGRE

Data: 15/12/2023 15:09:43-0300

Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Profa. Dra. CÍNTIA DUARTE DE FREITAS MILAGRE (Participação Virtual)
Departamento de Bioquímica e Química Orgânica / Instituto de Química - UNESP - Araraquara

Araraquara, 15 de dezembro de 2023

DADOS CURRICULARES

IDENTIFICAÇÃO

Nome: Thais Rodrigues

Nome em citações bibliográficas: RODRIGUES, T.; RODRIGUES, THAIS

ENDEREÇO PROFISSIONAL

Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Instituto de Química de Araraquara, Departamento de Química Analítica. Rua Prof. Francisco Degni, 55, Quitandinha. 14800900 - Araraquara, SP - Brasil - Caixa-postal: 355.

FORMAÇÃO ACADÊMICA/TITULAÇÃO

2021 – 2023 - Mestrado em Química. Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, Brasil. Título: Preparo e aplicação de líquido iônico magnético na microextração líquido-líquido dispersiva para a determinação de retardantes de chama polibromados presentes em amostras de lodo de esgoto. Orientador: Paulo Clairmont Feitosa de Lima Gomes. Coorientador: Josias de Oliveira Merib. Bolsista do: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, CNPq, Brasil. Grande Área: Ciências Exatas e da Terra / Área: Química / Subárea: Química analítica e Cromatografia.

2014 – 2021 - Graduação em Licenciatura em Química Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, Brasil

FORMAÇÃO COMPLEMENTAR

2009 – 2010 - Curso técnico/profissionalizante em Técnico em Química. Colégio Diocesano La Salle São Carlos, Brasil

ATUAÇÃO PROFISSIONAL

2011 – 2014 - Auxiliar técnico de laboratório. FAI. UFSCar (Fundação de apoio Institucional Científico e Tecnológico na Universidade Federal de São Carlos).

PRODUÇÃO BIBLIOGRÁFICA

Artigos completos publicados em periódicos

Martins, G. H.; Rodrigues, T.; Lamarca, R. S.; Ayala-Duran, S. C.; Silva, B. F.; Gomes, P. C. F. L. Continuous removal of caffeine in a horizontal-flow anaerobic immobilized biomass bioreactor: identification of transformation products. 2023.

PARTICIPAÇÃO EM EVENTOS CIENTÍFICOS

IV Workshop online INCT-DATREM. Título do trabalho: Síntese, caracterização e aplicação de líquido iônico magnético na determinação de contaminantes emergentes, 2021.

V Workshop INCT-DATREM. Título do trabalho: Síntese de líquido iônico magnético e aplicação no preparo de amostras. 2022.

VI Workshop INCT-DATREM. Título do trabalho: Determination of polybrominated flame retardants in sludge samples using magnetic ionic liquids and PY-GC-MS, 2023.

46^a Reunião anual da Sociedade Brasileira de Química, Título do trabalho: Determination of polybrominated flame retardants in sludge samples using magnetic ionic liquids and PY-GC-MS", 2023.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer a Deus por me iluminar e permitir que eu chegasse onde estou. Trilhar este caminho só foi possível com o apoio, energia e força de várias pessoas, a quem dedico este projeto de vida. Especialmente à minha mãe Aparecida Luzinete Freitas da Silva por todas as lições que me proporcionou. Sou grata pelo amor e apoio incondicional. Quero expressar minha eterna gratidão ao meu marido Evandro Wesley da Costa, por sempre estar ao meu lado, me aconselhando em todos os momentos e por me apoiar em todas as minhas decisões e ideias malucas. Agradeço a minha irmã, Tamiris Rodrigues Sgobbi, a minha sobrinha Letícia Rodrigues Sgobbi e meu cunhado Deike Sgobbi, por todo o incentivo e os momentos de tranquilidade. Um agradecimento especial para a minha cachorra Kyra, por todos os momentos de brincadeira e carinho.

Um agradecimento especial ao meu orientador, o Professor Paulo Claimont Feitosa de Lima Gomes. Além de ser meu orientador, é um grande amigo. Sou grata por sua fé constante em mim, por sua orientação exemplar, fundamentada em um alto nível de rigor científico. Aprecio sua constante e frutífera dedicação, bem como sua visão crítica e oportuna. Seu incansável empenho, embora desafiador de maneira saudável, enriqueceu cada etapa do trabalho realizado. A sua orientação foi de grande importância para o meu crescimento profissional.

Agradeço ao meu coorientador, Josias de Oliveira Merib, por todo seu ensinamento e por toda a sua disponibilidade mesmo com a distância. Suas correções e sugestões, foram essenciais para tornar este trabalho melhor.

Quero expressar minha gratidão à Bianca Ferreira da Silva, uma grande amiga e a pessoa ao qual me incentivou a entrar na vida acadêmica e sempre me proporcionou muita ajuda e motivação para enfrentar todos os desafios, desde a graduação e até o momento atual. Muitos dos conhecimentos que tenho hoje foi graças a sua dedicação e boa vontade em me ensinar, muito obrigada por me transmitir a paixão pela espectrometria de massas. Muito obrigada por me encorajar mesmo morando em outro país.

À Karen Chibana, amiga que fiz durante a graduação e embarcou comigo no sonho da pós-graduação. Obrigada pelo companheirismo diário no laboratório e na vida. Você tornou os dias de trabalho muito mais leves e divertidos. Obrigada por me ajudar em todos os momentos que precisei. Obrigada por todo apoio ao longo desta caminhada. Dividimos os sonhos, as alegrias

e as dificuldades juntas. Obrigada por me transmitir tanta paz e tranquilidade e muito obrigada por embarcar em minhas risadas sem motivo, obrigada por tudo!

Aos amigos do grupo de pesquisa Saidy e Gabriel e os amigos do departamento, Guilherme Isquibola, Lucas Silva, Caio César, Thais Betone, Caroline Prudencio e Evilim Martinez ao pessoal do NDCON, Kalliny, Lilian, João Pedro e Hernán, nós passamos mais tempo juntos do que em nossa casa, com a nossa família. Conviver com vocês ao longo desses dois anos foi sensacional. Muito obrigada por toda forma de ajuda, pela companhia durante um café, pelas inúmeras conversas e risadas. Vocês são muito especiais e tornam o trabalho muito mais agradável. Agradeço à Vanda, dona da cantina do IQ, por todo o carinho prestado desde a graduação.

As alunas de iniciação científica Letícia e Iara pela colaboração vocês são ótimas e excelentes profissionais e a todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho, o meu muito obrigada!

Agradeço a Ana Claudia Rubio minha professora de inglês que me ajudou em diversos momentos e por todos os ensinamentos.

As minhas amigas Ana, Vanessa, Paola e Vitória, obrigada por sempre me escutarem e por todas as reuniões nas quais me ajudaram a relaxar nos momentos mais difíceis da minha vida. A minha grande amiga Nathalia Cristina que mesmo com a distância na qual moramos sempre estava ao meu lado.

Por fim, o meu profundo e sentido agradecimento a todas as pessoas que contribuíram para a concretização desta dissertação, estimulando-me intelectual e emocionalmente.

Quero expressar minha gratidão ao Instituto de Química da UNESP-Araraquara e ao programa de pós-graduação em química, que proporcionaram ensinamentos valiosos, uma educação pública de alta qualidade e diversas oportunidades ao longo do meu percurso acadêmico. Agradeço igualmente a todos os meus professores, que compartilharam seu conhecimento comigo e desempenharam um papel fundamental na minha formação. Por fim, agradeço ao órgão de fomento na qual “O presente trabalho foi realizado com o apoio do Conselho Nacional de desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) – Processo 161860/2021-4”.

Agradeço à banca de avaliação, que aceitou participar e contribuir para o sucesso deste trabalho.

“Ninguém pode voltar atrás e fazer um novo
começo. Mas qualquer um pode recomeçar e
fazer um novo fim.”

Chico Xavier

RESUMO

Algumas classes de substâncias são classificadas como compostos químicos emergentes (CECs), uma vez que são encontradas em diversos tipos de amostras, incluindo amostras ambientais como água e esgoto. Os CECs são caracterizados pela elevada persistência ambiental e pela falta de legislação para o seu controle e monitoramento. Para determinar esses contaminantes, geralmente são usadas técnicas de cromatografias acopladas à espectrometria de massas. Entretanto, geralmente são necessárias técnicas de preparação de amostras previamente à análise instrumental as quais se apresentam como estratégia viável neste tipo de análise. Nesse contexto, destaca-se a importância da microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME), pois permite reduzir o volume da amostra e dos solventes. Atualmente, diferentes solventes tem sido empregados incluindo líquidos iônicos magnéticos (MILs) os quais apresentam propriedades físico-químicas semelhantes aos líquidos iônicos possuindo respostas adicionais aos campos magnéticos devido à incorporação de um componente paramagnético na estrutura química. Portanto, o uso de MIL no DLLME simplifica o procedimento excluindo a etapa de centrifugação. Assim, o objetivo dessa pesquisa foi preparar um líquido iônico magnético (MIL) e aplicá-lo na DLLME como solvente de extrator, a fim de analisar retardantes de chama éter difenil polibromados (PBDEs) em amostras de lodo de esgoto por GC/MS. O PBDE 8, PBDE 47, PBDE 99, PBDE 100, PBDE 153 foram selecionados, e a amostra foi introduzida no GC/MS usando um pirolisador. Os parâmetros DLLME e de introdução de amostra foram otimizados usando um planejamento fatorial multivariado. O MIL preparado foi o $[\text{P}_{66614}^+]_2[\text{MnCl}_4^{2-}]$ e caracterizado por UV-Vis, infravermelho (FTIR), Raman e Análise térmica. No método cromatográfico foi utilizado um pirolisador na etapa de introdução da amostra (Py-GC-MS), as condições de injeção foram otimizadas em abordagens multivariadas por Box-Behnken usando três variáveis. A condição ideal alcançada foi temperatura de 220 °C, tempo de pirólise de 0,6 min e o volume de injeção de 9,00 µL. As condições otimizadas da DLLME por delineamento composto central (CCD) foram 10 mg de MIL, 3,00 µL de acetonitrila (ACN) como solvente dispersor e um tempo de extração de 120 s com volume de amostra de 8,50 mL. As condições otimizadas para Py e DLLME permitiram a separação adequada de PBDEs em amostras de lodo, sem a etapa de centrifugação. Obteve-se os valores de precisão entre 0,11 % e 12,5 % com limite de detecção (LOD) de 44,4 µg L⁻¹ PBDE 28, 16,9 µg L⁻¹ PBDE 47 e PBDE 99, 33,0 µg L⁻¹ PBDE 100 e 375 µg L⁻¹ PBDE 153. Foi possível quantificar o PBDE 28 na amostra de lodo de esgoto presente na concentração de 800 µg L⁻¹. O método desenvolvido se mostrou eficiente para a extração de todos os PBDEs de compostos estudados e o líquido iônico magnético se mostrou preciso quando associado à técnica de DLLME.

Palavras-chave: líquido iônico magnético; contaminantes emergentes; PBDE; DLLME; cromatografia gasosa; pirolisador.

ABSTRACT

Some classes of substances are classified as emerging chemical compounds (CECs) because they are found in various types of samples, including environmental samples like water and sewage. CECs are characterized by high environmental persistence and a lack of legislation for their control and monitoring. To determine these contaminants, chromatographic techniques coupled with mass spectrometry are commonly used. However, sample preparation techniques are often required prior to instrumental analysis, which are a viable strategy in this type of analysis. In this context, the importance of dispersive liquid-liquid microextraction (DLLME) stands out because it allows reducing the sample and solvent volume. Currently, different solvents have been employed, including magnetic ionic liquids (MILs), which have physicochemical properties similar to ionic liquids and exhibit additional responses to magnetic fields due to the incorporation of a paramagnetic component into their chemical structure. Therefore, the use of MIL in DLLME simplifies the procedure by excluding the centrifugation step. Thus, the aim of this research was to prepare a magnetic ionic liquid (MIL) and apply it in DLLME as an extraction solvent to analyze polybrominated diphenyl ether flame retardants (PBDEs) in sewage sludge samples by GC/MS. PBDE 28, PBDE 47, PBDE 99, PBDE 100, and PBDE 153 were selected, and the sample was introduced into GC/MS using a pyrolyzer. DLLME and sample introduction parameters were optimized using a multivariate factorial design. The prepared MIL was $([P_{66614}^+]_2[MnCl_4^{2-}])$ and characterized by UV-Vis, infrared (FTIR), Raman, and thermal analysis. In the chromatographic method, a pyrolyzer was used in the sample introduction stage (Py-GC-MS), and the injection conditions were optimized using a Box-Behnken multivariate approach with three variables. The ideal condition reached was a temperature of 220°C, pyrolysis time of 0.6 minutes, and an injection volume of 9.00 μL . The optimized conditions for DLLME using a central composite design (CCD) were 10 mg of MIL, 3.00 μL of acetonitrile (ACN) as the dispersing solvent, and an extraction time of 120 seconds with a sample volume of 8.50 mL. The optimized Py and DLLME conditions allowed for the proper separation of PBDEs in sludge samples without the centrifugation step. Precision values ranged from 0.11% to 12.5% with a detection limit (LOD) of 44.4 $\mu\text{g L}^{-1}$ for PBDE 28, 16.9 $\mu\text{g L}^{-1}$ for PBDE 47 and PBDE 99, 33.0 $\mu\text{g L}^{-1}$ for PBDE 100, and 375 $\mu\text{g L}^{-1}$ for PBDE 153. It was possible to quantify PBDE 28 in the sewage sludge sample at a concentration of 800 $\mu\text{g L}^{-1}$. The developed method proved to be efficient for the extraction of all the studied PBDE compounds, and the magnetic ionic liquid showed accuracy when combined with the DLLME technique.

Keywords: magnetic ionic liquid; emerging contaminants; PBDE; DLLME; gas chromatography; pyrolyzer.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Índice de atendimento esgoto no ano de 2020 com as porcentagens regionais.	18
Figura 2. Estrutura plana das moléculas de PBDE 28, PBDE 47, PBDE 99, PBDE 100, PBDE 153.	21
Figura 3. Semelhança entre as estruturas dos hormônios tireoidianos e a estrutura base dos PBDEs.	22
Figura 4. Ilustração da parte interna do pirolisador com a porta amostra nas posições inicial e de análise.	25
Figura 5. Principais estruturas de ânions e cátions mais utilizados nos ILs e MILs.	28
Figura 6. Delineamento composto central sendo $k=3$ e axiais $\sqrt{3}$. As bolas azuis são a parte cúbica, as bolas verdes representam os pontos axiais e a bola vermelha representa o ponto central.	32
Figura 7. Distribuição espacial dos pontos experimentais de um planejamento Box-Behnken para otimização de $k=3$	33
Figura 8. Ilustração do processo de DLLME usando o MIL como solvente extrator. a) Amostra aquosa fortificada com $500 \mu\text{g L}^{-1}$ dos analitos em MeOH. b) Adição do MIL na amostra diluído em ACN. c) Amostra turva após 120 segundos de agitação manual. d) Recolhimento do MIL contendo os analitos de interesse com o auxílio do ímã de neodímio.	40
Figura 9. Foto do reagente trihexiltetradecilfosfônio (precursor IL), o MIL ($[\text{P}_{6,6,6,14}^+]\text{[MnCl}_4^{2-}]$) preparado e sua estrutura descrita por Santos 2013.	46
Figura 10. Comparação dos espectros UV-Vis do precursor trihexiltetradecilfosfônio $[\text{P}_{6,6,6,14}^+][\text{Cl}^-]$ (linha preta) e do MIL sintetizado ($[\text{P}_{6,6,6,14}^+]\text{[MnCl}_4^{2-}]$).	47
Figura 11. Espectro de FTIR do MIL (linha vermelha) e dos seus precursores (trihexiltetradecilfosfônio linha preta e o sal cloreto de manganês (linha azul). (Resolução espectral: 4 cm^{-1} FTIR).	48
Figura 12. Espectro Raman do MIL (linha vermelha) e de seus precursores (trihexiltetradecilfosfônio linha preta e o sal cloreto de manganês linha azul). (Resolução espectral: 4 cm^{-1} FTIR e 1 cm^{-1} Raman).	49
Figura 13. Termograma obtido pela análise do MIL (linha preta) e a sua derivada (linha vermelha).	50
Figura 14. Espectro de massas do A) PBDE 28, B) PBDE 47, C) PBDE 99, D) PBDE 100, E) PBDE 153, na concentração de 20 mg L^{-1} em MeOH.	51
Figura 15. Cromatograma dos íons extraídos (XIC) obtido pela análise de uma mistura de solução padrão de $6,00 \text{ mg L}^{-1}$ do PBDE 28, PBDE 47, PBDE 99, PBDE 100, PBDE 153, BrB e BrB-D5 em MeOH.	53
Figura 16. Cromatograma de íons extraídos (XIC) obtido pela análise de uma mistura de solução padrão de 1 mg L^{-1} do PBDE 28, PBDE 47, PBDE 99, PBDE 100 e PBDE 153 em MeOH.	53
Figura 17. XIC obtido pela análise de uma mistura de solução padrão de 2 mg L^{-1} do PBDE 28, PBDE 47, PBDE 99, PBDE 100 e PBDE 153 em MeOH para as diferentes temperaturas testadas.	54
Figura 18. Gráfico de Pareto obtido para a otimização da injeção usando experimento Box-Behnken.	56
Figura 19. Superfícies de respostas adquirida após a otimização da injeção do pirolisador usando delineamento Box-Behnken.	57

Figura 20. Cromatograma de íons extraído (XIC) obtido pela análise de uma mistura de solução padrão de 10 mg L ⁻¹ PBDE 28, PBDE 47, PBDE 99, PBDE 100, PBDE 153, BrB e BrB-D5 em hexano na condição de injeção otimizada.	58
Figura 21. Estudo da adição do MIL de massa fixa com volumes diferentes de solvente dispersor (ACN).....	59
Figura 22. Gráfico de Pareto do planejamento 2 ⁴ para a condição da DLLME utilizando o MIL como solvente extrator e água como amostra.	60
Figura 23. A) Superfície de resposta obtidas comparando solvente dispersor x tempo, B) Superfície de resposta obtidas comparando tempo x amostra e C) Superfície de resposta obtidas comparando tempo x massa de MIL no planejamento 2 ⁴ para a condição da DLLME utilizando o MIL como solvente extrator e água como amostra.	61
Figura 24. Gráfico de Pareto obtido no planejamento CCD para obter a melhor condição da DLLME utilizando o MIL como solvente extrator e água como amostra.	63
Figura 25. A) Superfície de resposta obtidas comparando volume de amostra utilizada com volume de solvente dispersor e B) Superfície de resposta obtidas comparando massa utilizada de MIL com volume de solvente dispersor, obtidas no planejamento CCD para obter a melhor condição da DLLME utilizando o MIL como solvente extrator e água como amostra.	63
Figura 26. Cromatograma de íons extraído (XIC) do PBDE 28, PBDE 47, PBDE 99, PBDE 100 e PBDE 153 após a DLLME/MIL otimizada.....	64
Figura 27. Curva analítica obtidas para o PBDE 28, PBDE 47, PBDE 99, PBDE 100 e PBDE 153 em hexano.	65
Figura 28. Cromatograma dos íons extraídos (XIC) do lodo após aplicação da DLLME/MIL sem adição de padrão.	69
Figura 29. Curva de adição de padrão do PBDE 28 feita na amostra de lodo usando o método proposto.	70

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Extensão dos rios brasileiros comprometidos por DBO segundo ANA.....	19
Tabela 2. Propriedades físico-químicas dos PBDE 28, PBDE 47, PBDE 99, PBDE 100, PBDE 153 e BrB.	23
Tabela 3. Janelas de detecção utilizadas no modo SIM.	37
Tabela 4. Variáveis e níveis utilizados no planejamento 2^3 para otimização da introdução da amostra no pirolisador.	41
Tabela 5. Matriz codificada referente aos experimentos do planejamento fatorial completo 2^3 aplicado na otimização da introdução da amostra no pirolisador.	41
Tabela 6. Variáveis e níveis utilizados no planejamento de Box-Behnken.....	42
Tabela 7. Matriz codificada referente aos experimentos feitos no planejamento de Box-Behnken.....	42
Tabela 8. Matriz codificada referente aos experimentos do planejamento fatorial completo 2^4 para a otimização da extração DLLME/MIL em água.	43
Tabela 9. Níveis utilizados no planejamento CCD para otimização da DLLME/MIL em água.	44
Tabela 10. Matriz codificada para o planejamento CCD para a DLLME/MIL em água.	44
Tabela 11. Tempo de retenção e íons selecionados dos analitos usados no modo SIM.	54
Tabela 12. Resultados dos cálculos de assimetria (A_s) e o fator de alargamentos (TF) para os analitos estudados.	58
Tabela 13. Parâmetros físico-químicos do pool de amostra.....	65
Tabela 14. Parâmetros de precisão (RSD %), LOD e LOQ para o PBDE 28, PBDE 47, PBDE 99, PBDE 100 e PBDE 153 obtidos para as diferentes concentrações da curva de calibração em hexano (n=3).....	66
Tabela 15. Concentração de PBDEs encontrados em amostras de lodo de esgoto e sedimentos e comparação do método de DLLME/MIL proposto com outros presentes na literatura.....	72

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACN	Acetonitrila
ANA	Agência Nacional de Águas e Saneamento Básico
ANOVA	Análise de variância
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
A _s	Assimetria
BrB	Bromobenzeno
CCD	Delineamento composto central
DBO	Demanda bioquímica de oxigênio
DLLME	Microextração líquido-líquido dispersiva
DTG	Derivada da análise termogravimétrica
EGA	Análise de gases evoluídos
EI	Ionização por elétrons
ETE	Estação de tratamento de esgoto
FDA	Agência Federal do Departamento de Saúde e Serviços Humanos dos Estados Unidos
FTIR	Espectroscopia de absorção na região do infravermelho
GC	Cromatografia gasosa
HS	Extração por headspace
ILs	Líquidos iônicos
INMETRO	Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia
LLE	Extração líquido-líquido
LOD	Limite de detecção
LOQ	Limite de quantificação
<i>m/z</i>	Razão massa/carga
MILs	Líquidos iônicos magnéticos
MS	Espectrometria de massas
PBDE 100	Éter 2,2',4,4',6- Pentabromodifenílico
PBDE 153	Éter 2,2',4,4',5,5'-hexabromodifenílico
PBDE 28	Éter 2,4,4'-TriBDE,2,4,4'- tribromodifenílico

PBDE 47	Éter 2,2',4,4'-Tetrabromodifenílico Éter
PBDE 99	Éter 2,2',4,4',5- Pentabromodifenílico
PBDEs	Éteres difenílicos polibromados
PTV	Vaporização com temperatura programada
Py	Pirolisador
RDSE	Extração em disco rotativo de extração
R _s	Resolução
RSD	Relação sinal/ruído
SCAN	Modo varredura de íons
SIM	Modo íons selecionados
SINIS	Sistema Nacional de Informações sobre saneamento
SPE	Extração em fase sólida
SPME	Microextração em fase sólida
TF	Fator de alargamento
TG	Análise de termogravimétrica
TOC	Carbono orgânico total
UV-Vis	Espectroscopia no ultravioleta visível

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	18
1.1. Saneamento no Brasil.....	18
1.2. Retardantes de chama bromados.....	20
1.3. Py-GC-MS.....	23
1.3.1. Introdução da amostra	24
1.4. Preparo de amostra.....	26
1.5. Líquidos iônicos (ILs) e Líquidos iônicos magnéticos (MILs).....	27
1.6. Estado da arte relativo ao uso de ILs e MILs	28
1.7.1. Delineamento composto central (CCD)	31
1.7.2. Planejamento Box-Behnken.....	32
2. OBJETIVO	34
2.1. Objetivos Específicos.....	34
3. METODOLOGIA	35
3.1. Materiais e adequação dos métodos utilizados	35
3.2. Separação cromatográfica.....	36
3.3. Figuras de qualidade do método proposto	37
3.4. Preparo e caracterização do MIL ([P₆₆₆₁₄⁺]₂[MnCl₄²⁻]).....	38
3.5. Preparo de amostra DLLME/MIL	39
3.6. Avaliação da influência de temperatura na análise dos PBDEs usando pirolisador.....	40
3.7. Otimização da introdução da amostra no pirolisador	40
3.8. Otimização da extração DLLME/MIL.....	43
3.9. Estudo Solubilidade MIL.....	45
3.10. Amostras de lodo	45
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	45
4.1. Caracterização MIL.....	45
4.2. Desenvolvimento do Método Cromatográfico Py-GC-MS	50
4.3. Avaliação da temperatura do Pirolisador e os efeitos na separação dos PBDEs.....	54
4.4. Planejamento Box-Behnken para otimização da temperatura de introdução da amostra	55
4.5. Estudo de Solubilidade do MIL	58
4.6. Otimização da DLLME/MIL usando planejamento composto central.....	59
4.7. Caracterização Físico-Química da Amostra	64
4.8. Parâmetros de qualidade do método	65
4.8.1. Curva de adição padrão na amostra de lodo utilizando DLLME/MIL.....	68
5. CONCLUSÕES	75

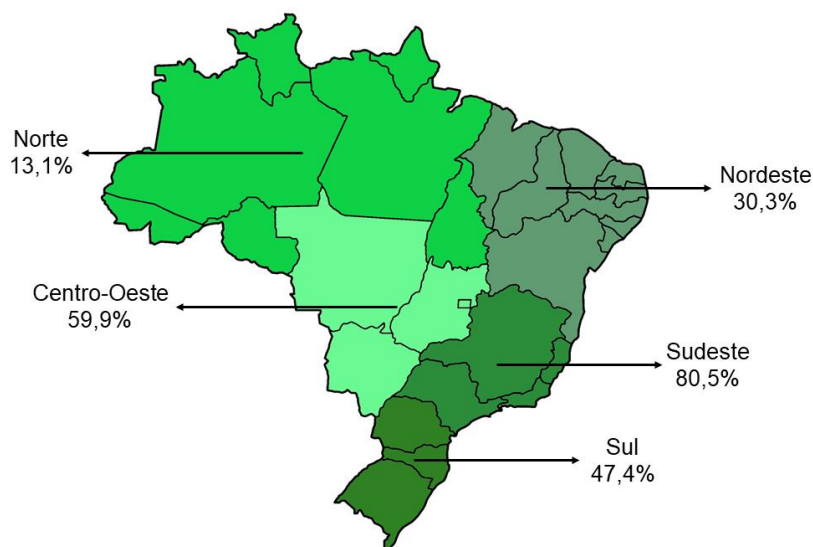
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	77
---	-----------

1. INTRODUÇÃO

1.1. Saneamento no Brasil

No Brasil o saneamento básico é precário, o Sistema Nacional de Informações sobre saneamento (SNIS) realiza pesquisa anualmente sobre o índice de atendimento de esgoto, as informações utilizadas na pesquisa são coletadas pelos prestadores de serviços de saneamento básico presentes em cada um dos municípios brasileiros. Em 2019 foi observado que no total de 4.225 municípios, 2.589 contém rede coletora de esgotos e 1.634 municípios não possuem sistema público de esgoto, ou seja, mais que a metade dos municípios não possuem sistema público de tratamento de esgoto, utilizando como alternativa fossas ou descarte do esgoto diretamente na natureza [1]. No ano de 2020 a média do país foi de 55,0% com um aumento de 0,9 ponto percentual referente ao ano de 2019, isso sem incluir a existência do tratamento do esgoto, se referindo apenas ao acesso da captação da rede pública coletora de esgoto [1]. Na Figura 1 está descrito por região a porcentagem total do índice de atendimento de esgoto, e como pode ser observado que a região com maior captação de esgoto é a região Sudeste devido a sua densa faixa populacional.

Figura 1. Índice de atendimento esgoto no ano de 2020 com as porcentagens regionais.



Fonte: Adaptado SNIS (2022).

De acordo com os dados divulgados pelo Trata Brasil 48,8% da população brasileira não têm acesso ao tratamento de esgoto, sendo despejados na natureza por ano cerca de 1,3 bilhões de litros que representa um total de 5,3 milhões de piscinas olímpicas de esgoto sem

tratamento. O lançamento de esgoto sem tratamento adequado coloca em risco a qualidade da água em áreas urbanas, afetando a saúde da população além de dificultar a utilização da jusante para o abastecimento [2].

No levantamento da Agência Nacional de Águas e Saneamento Básico (ANA) de 2017 foi analisada a situação do esgoto sanitário em todos os municípios brasileiros, e seus impactos decorrentes aos lançamentos nos rios, lagos e reservatórios em todo o País. O estudo foi realizado utilizando os valores resultantes de concentrações da demanda bioquímica de oxigênio (DBO), parâmetros como fósforo e nitrogênio visando o controle de eutrofização de lagos e reservatório, tendo como foco a contaminação de mananciais e jusantes [3].

Com os valores de DBO foi estimado a classificação dos trechos de rios conforme o enquadramento previsto na Resolução CONAMA n° 357/2005, sendo aceitáveis valores de DBO de até 3 mg O₂ L⁻¹. Foram apresentados que mais de 136 mil km de trechos de rio estão comprometidos conforme a Tabela 1. Foi obtido DBO acima de 10 mg L⁻¹, sendo que valores entre 5,0 e 10 mg L⁻¹ não permitem que a água seja usada para captação e abastecimento. Esse tipo de rio é classificado como classe 3 e 4 respectivamente, requerendo o tratamento prévio para que a água seja destinada para abastecimento. O seu uso é permitido para a navegação e paisagismo [3].

Tabela 1. Extensão dos rios brasileiros comprometidos por DBO segundo ANA.

Extensão Km	Concentração de DBO mg L⁻¹
1.656.930	Até 3
83.450	Acima de 10
27.040	Entre 5 e 10
25.760	Entre 3 e 5

Fonte: Elaborado pela autora (2023).

Os tratamentos de esgotos sanitários têm como objetivo a redução de matéria orgânica, dos microrganismos patogênicos, dos sólidos em suspensão e, em circunstâncias especiais, dos nutrientes presentes nos esgotos sanitários, e supõem na ausência de resíduos tóxicos provenientes de indústrias. Os processos de tratamentos mais encontrados são constituídos por lagoa anaeróbia seguida de lagoa facultativa, também são encontrados em diferentes

tratamentos como reator anaeróbio, tanque séptico associado a filtro anaeróbio, lagoa facultativa, reator anaeróbio seguido de filtro biológico [3].

A DBO juntamente com os padrões da qualidade da água estabelecidos pelo CONAMA nº357/2005, não fornece valores relativos, ou mesmo, consegue correlacionar a presença dos contaminantes emergentes em águas residuárias. Os contaminantes emergentes também são considerados micropoluentes, por serem encontrados em baixas concentrações na ordem de $\mu\text{g L}^{-1}$ e ng L^{-1} em estações de tratamento de água e esgoto [4].

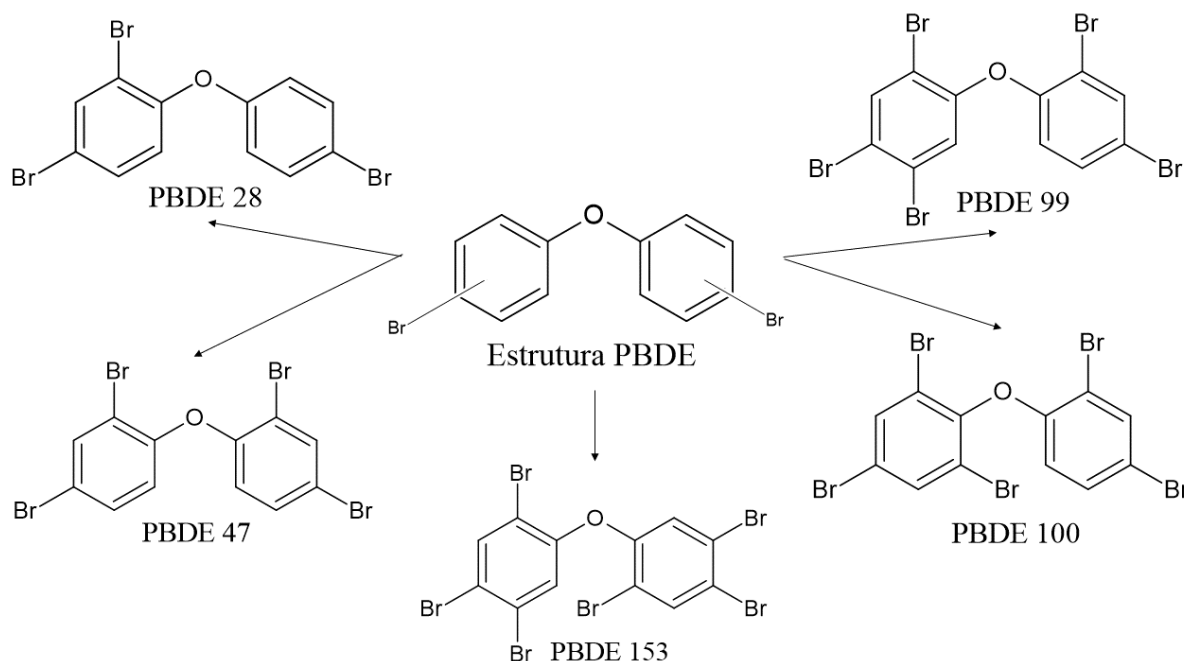
1.2. Retardantes de chama bromados

Diversas substâncias são consideradas contaminantes emergentes como os praguicidas, drogas ilícitas, fármacos, produtos de higiene pessoal, alquilfenóis e seus derivados, retardantes de chama bromados, compostos orgânicos perfluorados e outros. Alguns desses compostos são considerados desreguladores endócrinos, e causam danos morfológicos como alterações sexuais, além de puberdade feminina precoce, leucemia, câncer cerebral e distúrbios neurocomportamentais [5], [6].

A data de início de uso dos retardantes de chama foi 450 a.C., com os egípcios que usavam alume para reduzir a inflamabilidade da madeira, e cerca de 200 a.C. os romanos começaram a utilizar uma mistura de alume e vinagre para reduzir a possibilidade de combustão da madeira. Os retardantes de chama são aplicados em materiais inflamáveis para retardar o processo de queima, aumentando assim a possibilidade de fuga para um local sem chamas. Atualmente são usados retardantes de chama como os nitrogenados, fosforados e halogenados dentre os halogenados existem os clorados e os bromados [7].

Os compostos PBDE 28, PBDE 47, PBDE 99, PBDE 100, PBDE 153 (Figura 2) são éteres difenílicos polibromados (PBDE), formados por um átomo de oxigênio (ligação éter) ligado a dois anéis benzênicos. Os átomos de bromo podem substituir os átomos de hidrogênio variando-se pelo número de átomos de bromo e sua posição resultando assim em 209 congêneres. PBDE com maior número de átomos de bromo tendem a se decompor em congêneres de menor quantidade de bromo por meio de vias bióticas ou abióticas, e também apresentam maior toxicidade [8], [9].

Figura 2. Estrutura plana das moléculas de PBDE 28, PBDE 47, PBDE 99, PBDE 100, PBDE 153.

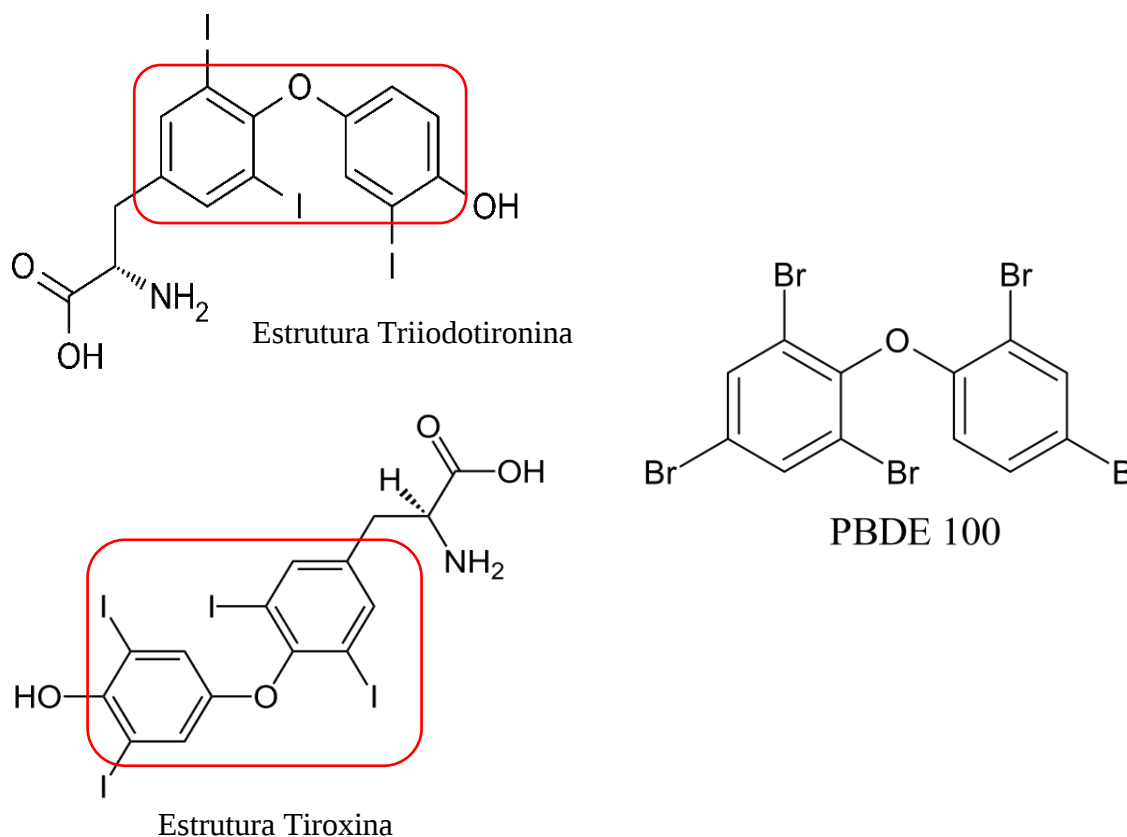


Fonte: Elaborado pela autora (2023).

Os PBDEs possuem estruturas semelhantes aos hormônios tireoidiano (tiroxina T4 e triiodotironina T3) como é observado na Figura 3. Os átomos de Bromo e Iodo possuem semelhanças atômica, sendo classificados como halogênios pertencentes ao grupo 17 da Tabela Periódica. Ambos possuem sete elétrons no nível eletrônico mais externo e são diferenciados no número de níveis energéticos. Os dois elementos encontram-se como moléculas diatômicas e são coloridos, o $\text{Br}_2(\text{g})$, e no estado líquido são castanho avermelhado escuro, e o $\text{I}_2(\text{g})$ é violeta, ambos são eletronegativos [10].

Por causa da semelhança estrutural, podem ocorrer alterações nos níveis desses hormônios tireoidiano, devido a competição entre o substrato e seu receptor, levando assim a mudanças na sua concentração sérica. O seu mecanismo inclui a substituição da proteína de transporte da tireoide (transtirretina) e os receptores do hormônio tireoidiano, afetando o metabolismo da tiroxina (T4) [11], [12].

Figura 3. Semelhança entre as estruturas dos hormônios tireoidianos e a estrutura base dos PBDEs.



Fonte: Elaborado pela autora (2023).

No mercado mundial estima-se que a produção global de todos os PBDEs entre 1970 a 2005 foi no total cerca de 1,3 e 1,5 milhões de toneladas, sendo comercializados como três misturas éter difenílico penta-, octa- e deca-bromado, sendo denominados de acordo com os principais congêneres presentes nas misturas. São utilizados os PBDEs em produtos como computadores, TV e tecidos domésticos. No ano de 2009 as misturas de penta e octa-BDE foram regulamentadas globalmente, e apenas em 2019 a mistura deca-bromado foi regulamentada. São estimados que a emissão em uso, e os estoques de resíduos devem continuar até o ano de 2050. Os PBDEs possuem baixa pressão de vapor como é observado no Tabela 2, são lipofílicos, devido à resistência a degradação física, química e biológica são considerados persistentes, tóxicos e bioacumuláveis [5], [8], [13], [14].

O Bromobenzeno (BrB) pode ser encontrado em ambientes atmosféricos, terrestres e aquáticos, não é biodegradável, sendo conhecido pela sua alta toxicidade e resistência ambiental. Ao ser metabolizado gera hepatotoxicidade e seus metabólitos secundários são

altamente tóxicos aos rins. O BrB é utilizado em produções de pesticidas, solventes, aditivos para óleos de motor e também como intermediário de síntese orgânica [15], [16], [17].

Tabela 2. Propriedades físico-químicas dos PBDE 28, PBDE 47, PBDE 99, PBDE 100, PBDE 153 e BrB.

Compostos	MM (g mol ⁻¹)	Pressão de vapor (Pa, 25°C)	^a Log K
PBDE 28	406,9	1,43 x 10 ⁻⁴	6,70
PBDE 47	485,8	1,45 x 10 ⁻⁵	7,40
PBDE 99	564,7	7,76 x 10 ⁻⁶	8,20
PBDE 100	564,7	-	8,90
PBDE 153	643,6	-	8,90
BrB	157,0	0,55	3,00

* Os dados dessa tabela foram obtidos na plataforma de dados PubChem e NIST.

- Não encontrados na literatura

Estudos demonstram que em áreas industrializadas os níveis de PBDEs encontrados em peixes variam de 1,5 a 100 ng g⁻¹ e 30,6 a 281 ng g⁻¹ peso lipídico) na América do Norte e estuários de Taiwan, respectivamente. No leste da China os níveis são de 200 pg m⁻³ na atmosfera e nos sedimentos aproximadamente 0,02 a 46,6 ng g⁻¹ de peso seco [18].

Pesquisadores relataram que faltam informações disponíveis sobre o efeito tóxico do BrB no ambiente aquático, eles investigaram os efeitos ecotoxicológicos induzidos por BrB, por inibição da bioluminescência da bactéria *Vibrio fischeri*, inibição do crescimento da alga *Chlorella vulgaris* e imobilização do cladóceros *Daphnia magna*. Observaram que a consequência morfológica mais marcante foi a degeneração hidrópica, perda de células e distribuição de lisossomos ao redor do núcleo. Assim, o BrB foi classificado como tóxico para organismos aquáticos [18].

1.3. Py-GC-MS

Um dos métodos analíticos utilizados na determinação de contaminantes emergentes é a cromatografia gasosa (GC) acoplada a espectrometria de massas (MS). A espectrometria de

massas é uma técnica que permite a separação, quantificação e identificação de compostos por meio da análise das razões massa/carga (m/z) oriundas da fragmentação/ionização do analito. A capacidade de filtrar os íons pela diferença m/z proporciona uma alta seletividade e sensibilidade, sendo utilizado em análises quantitativas. Existem vários tipos de fontes de ionização, sendo a mais comum a ionização por elétrons (EI). Na EI as moléculas são bombardeadas com um feixe de elétrons de alta energia (70 eV) produzindo íons positivos, íons negativos e espécies neutras. Os íons positivos são dirigidos para o analisador por repulsão eletrostática. Devido à alta intensidade de energia, há o rompimento das moléculas gerando muitos fragmentos que são peculiares de cada grupo funcional presentes nas espécies moleculares analisadas [19].

1.3.1. Introdução da amostra

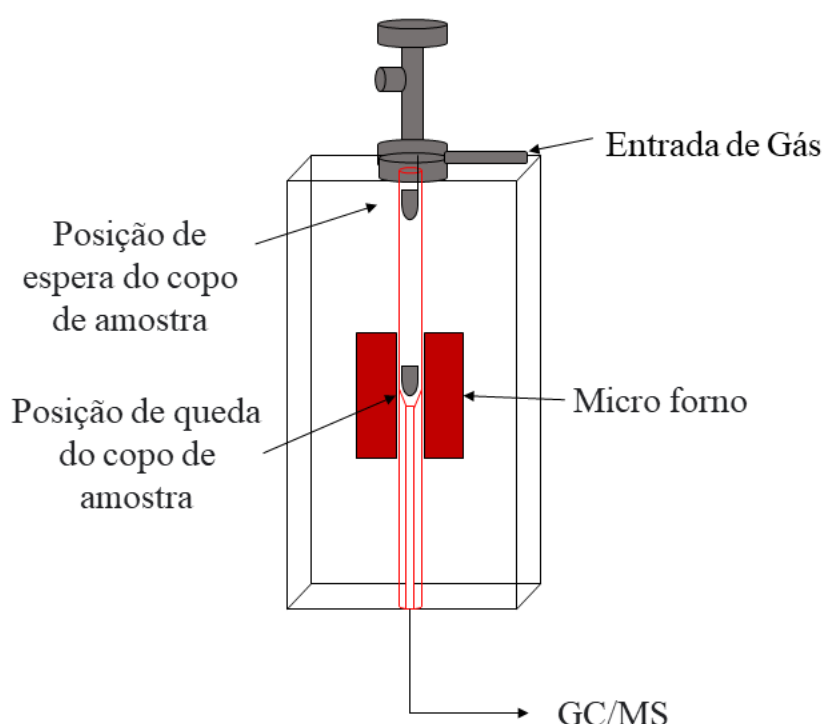
O sistema de introdução de amostra deve permitir a entrada rápida e quantitativa da amostra na corrente de gás de arraste no caso da cromatografia gasosa. Ao se utilizar uma coluna cromatográfica capilar o sistema de introdução de amostra tradicional, consiste nos modos split, splitless, on-column e vaporização com temperatura programada (PTV). No modo split a injeção é realizada com divisão da amostra enquanto no modo splitless não acontece a divisão da amostra sendo ambas injeções feitas no injetor aquecido, no qual acontece a vaporização da amostra. A injeção on-column toda a amostra é introduzida diretamente na coluna conhecida como entrada fria. O PTV é uma porta de injeção com capacidade de ser aquecida muito rapidamente a uma taxa definida e programada [20].

Além das introduções de amostras tradicionais, há os dispositivos auxiliares de amostras os quais introduzem amostras na coluna cromatográfica quando a injeção com seringa é inadequada um exemplo, quando utilizadas amostras sólidas. Existem dispositivos os quais incluem amostradores automáticos headspace, dessorventes térmicos e pirolisadores. Esses dispositivos de amostragem podem ser conectados diretamente à coluna ou a uma entrada existente.

Dentre os dispositivos citados o pirolisador é usado para clivar termicamente amostras não voláteis em fragmentos voláteis que podem ser analisados por cromatografia gasosa. A pirólise combinada à cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (Py-GC-MS) amplia a aplicação dessa técnica, sendo uma ferramenta essencial na determinação de contaminantes emergentes em amostras sólidas e semissólidas.

O sistema de introdução de amostra consiste em colocar uma quantidade de amostra em um cadinho que desce para um miniforno pré-aquecido do pirolisador, em seguida, a amostra é aquecida sob as condições de temperatura programadas (Figura 4), e analisada no GC/MS. Esta técnica oferece vantagens por utilizar pequena quantidade de amostras, recomendados 0,10 a 0,50 mg ou um volume de no máximo 80 μ L, obtendo uma análise rápida e precisa [21], [22].

Figura 4. Ilustração da parte interna do pirolisador com a porta amostra nas posições inicial e de análise.



Fonte. Adaptado Seerley, M.E. e Lynch, J.M 2023

O sistema de pirólise pode ser operado no modo pulsado no qual utilizam um filamento aquecido ou pirolise de ponto de Curie que utilizam metal ferromagnético indutivamente aquecido com radiofrequência. Além disso, pode ser feita pirólise contínua utilizando forno ou microforno vertical, possibilitando diferentes programações térmicas. Essa ferramenta permite uma análise rápida, auxilia na minimização de ocorrência das reações secundárias, já que a amostra é instantaneamente direcionada para a separação na coluna cromatográfica [23].

Existem algumas abordagens que podem utilizar o pirolisador, como em análise de gases evoluídos (EGA) para compreender as características térmicas totais de uma amostra. Nessa análise a amostra é aquecida lentamente, e o MS também pode ser operado a uma

velocidade de varredura lenta. Também pode ser realizada análise de pirólise rápida (single-shot) com temperatura fixa, e a pirólise em duas etapas (double-shot) no qual pode ser realizada uma rampa de aquecimento, usando diferentes patamares de temperatura [23], [24], [25].

1.4. Preparo de amostra

Em um panorama geral observa-se que a etapa de preparo de amostras demanda grande quantidade de tempo, é passível de erros. Estima-se que o preparo de amostra representa até 99% do tempo total de uma análise. Esses processos utilizam grandes volumes de amostras e de solventes. Dependendo da natureza da amostra há a necessidade de tratamentos físicos como lavagem, secagem, moagem e peneiramento ou tratamentos químicos como as extrações convencionais como a extração líquido-líquido (LLE). Além desta, a extração sólido-líquido do tipo Soxhlet que apresenta tempo de análise médio de 16 a 24 horas. Há ainda, a extração em fase sólida (SPE); extração por headspace (HS) que estão presentes nos métodos oficiais para preparo de amostra. O preparo de amostra é etapa essencial, e antecede a introdução de amostra nos equipamentos analíticos. O objetivo dessa etapa é compatibilizar a amostra, de forma que possa ser analisada, sem causar danos ao equipamento usado. Além disso, esta etapa também permite um aumento da detectabilidade dos analitos que são encontrados em baixas concentrações nas mais variadas matrizes [26]

Dentre as diversas técnicas de preparo de amostras, as técnicas de microextração têm sido amplamente usadas na determinação dos contaminantes emergentes. A miniaturização da extração possibilita a diminuição da quantidade de solventes utilizados, requer menor quantidade de amostra, reduz etapas, e possíveis perdas dos analitos, bem como a contaminação cruzada. A microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME) é baseada no sistema ternário de solventes: amostra aquosa (fase doadora), solvente dispersor e solvente extrator (fase receptora) alcançando o equilíbrio rapidamente. O solvente extrator deve ser imiscível na amostra e conter alta capacidade de extração ao analito, o solvente dispersor deve ser solúvel na fase doadora e na receptora. O procedimento para a realização da técnica consiste em injetar na amostra a solução contendo os dois solventes para a formação de uma solução turva que será centrifugada e retirada para a análise [27]. Na DLLME são comumente utilizados solventes clorados de alta densidade, tais como o clorofórmio, clorobenzeno e tetracloreto de carbono, o que favorece o processo de separação por centrifugação. Surgindo assim, a necessidade de usar solventes menos tóxicos, dentre os quais, os líquidos iônicos e os líquidos iônicos magnéticos que são o tema dessa dissertação. Os líquidos iônicos já foram utilizados como fase extratoras

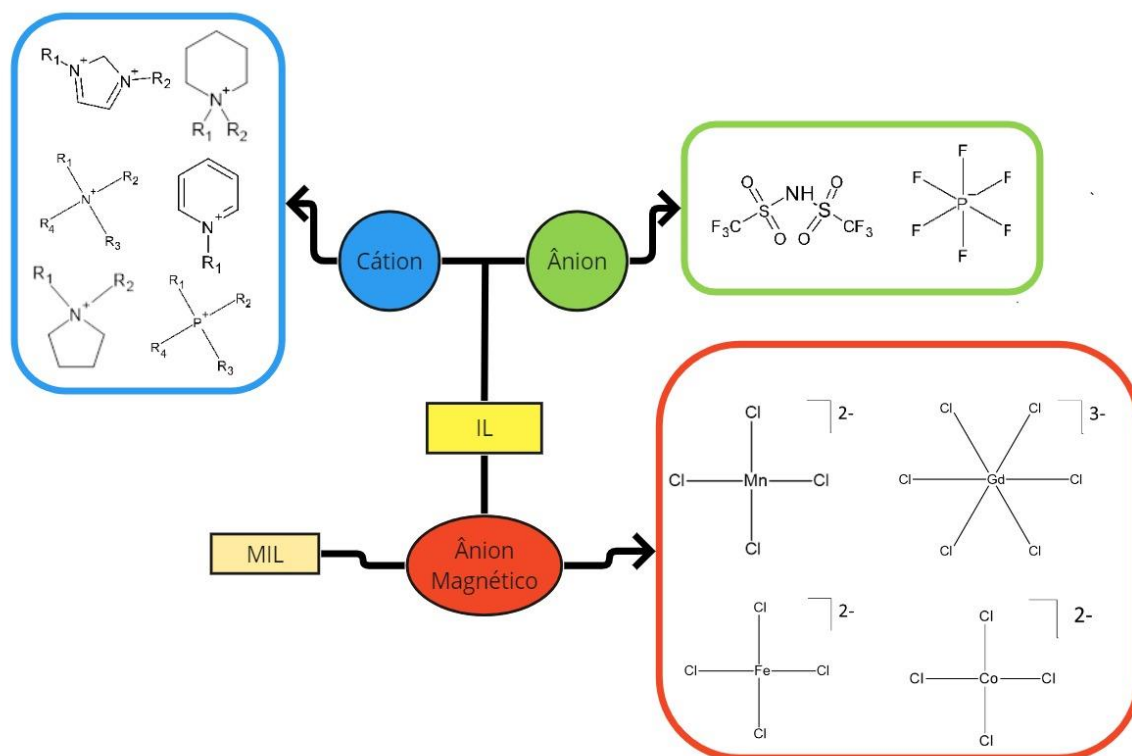
de diferentes técnicas de microextração como microextração em fase sólida (SPME), extração por sorção em barra de agitação (SBSE), extração em disco rotativo de extração (RDSE) [28], [29].

Existem diversos fatores que devem ser estudados quando são utilizadas microextrações na etapa de preparo de amostras tais como tempo de extração, volume de solventes extratores e dispersores, volume de amostra, efeito salting-out, pH dentre outros, para otimizar o tempo o uso de ferramentas quimiométricas auxiliam nesses estudos.

1.5. Líquidos iônicos (ILs) e Líquidos iônicos magnéticos (MILs)

Os ILs são formados por cátions orgânicos e ânions orgânicos ou inorgânicos tendo como característica serem sais fundidos à temperatura ambiente e ponto de ebulição inferiores a 100 °C. Dentre as suas propriedades apresentam pressão de vapor desprezível, ponto de fusão baixo, alta estabilidade térmica e química, além de boa solubilidade para analitos orgânicos e inorgânicos. Além disso, os ILs permitem diversas combinações de cátions e ânions (Figura 5) possibilitando variadas estratégias de sínteses que resultam em compostos com propriedades diversas de acordo com o interesse de análise. A alta estabilidade térmica dos ILs está associada à sua estrutura química, principalmente ao ânion que é utilizado para formar o determinado líquido iônico. Os ILs com ânions menos nucleofílicos ou coordenados geralmente exibem maior estabilidade térmica, comparados com ânions de haletos que normalmente se decompõem em temperaturas mais baixas. A viscosidade está relacionada ao cátion (sua natureza e tamanho) utilizado no ILs, quando aumenta o comprimento da cadeia carbônica ligada ao cátion aumenta a viscosidade [28].

Figura 5. Principais estruturas de ânions e cátions mais utilizados nos ILs e MILs.



Fonte: Elaborado pela autora (2023).

Os MILs constituem-se uma subclasse de ILs que apresentam resposta a um campo magnético externo, sendo produzidos pela incorporação de um componente magnético em sua estrutura química. Contém como características específicas suscetibilidade magnética, hidrofobicidade, estabilidade térmica e viscosidades variadas, além da múltipla capacidade de solvatação de moléculas com distintas propriedades. Os MILs se dispersam bem em soluções aquosas, e uma das vantagens em seu uso é a eliminação da etapa de centrifugação comumente usadas em técnicas de extração. Além disso, O MIL facilita sua retirada da solução, pois eles respondem a campos magnéticos externos, o que auxilia significativamente a separação da fase extratora da amostra [29]. Os MILs utilizados como solventes de extração em técnicas miniaturizadas são recentes, tendo muito potencial de pesquisa de novas rotas sintéticas e interações com diferentes analitos.

1.6. Estado da arte relativo ao uso de ILs e MILs

A primeira publicação referente aos ILs foi em 1887, mas somente nos anos 2000, como é observado na Figura 8, houve um crescente aumento no interesse de se desenvolver os ILs,

sendo conhecidos como os solventes do século 21. Esse aumento se deve pela versatilidade das características químicas adquiridas dependendo do ânion ou cátion utilizados em sua síntese, com isso, permitindo diferentes interações químicas que não ocorreriam em solventes convencionais, possibilitando o seu uso em técnicas de preparo de amostra [28].

A recente descoberta dos MILs, que teve a sua primeira publicação em 2001, desperta a necessidade de estudar as suas propriedades e possíveis aplicações, obtendo assim o crescimento de suas aplicações em diferentes áreas das ciências. Em 2014 foi registrado a primeira utilização do MIL como solvente extrator em microextração. Com isso há grande interesse de se estudar possibilidades de novos MILs, e aplicá-los como solventes extratores e demais importantes aplicações [29].

Merib e colaboradores (2018) determinaram os hormônios como estriol, 17- β -estradiol, 17- α -etinilestradiol e estrona em amostras de urina humana utilizando os MILs hidrofóbicos derivados do trihexiltetradecilfosfônio tetracloromanganato (II) ($[P_{66614}^+]_2[MnCl_4^{2-}]$) e aliquat tetracloromanganato (II) ($[Aliquat^+]_2[MnCl_4^{2-}]$) como fases extratoras, usando a DLLME no preparo de amostra, o que permitiu eliminar a etapa de centrifugação. O MIL utilizado é compatível com HPLC-DAD e as figuras de mérito obtidas foram LODs de 2 ng mL⁻¹, recuperação relativa do analito avaliada em três amostras variando de 67,5 a 115,6 %. Obtendo uma abordagem baseada em DLLME/MIL com precisão e exatidão, além do de alto rendimento extrativo.

O trabalho da Will (2021) determinou benzofenona, metolacoloro, triclocarban, pendimetalina, 4-metilbenzilideno cânfora, e 2-etilhexil-4-metoxicinamato de amostras ambientais aquosas utilizando extração em gotículas dispersivas de modo paralelo (PaDDE), obtendo a formação in situ de MILs hidrofóbicos ($[Co(C_4IM)_4^{2+}]_2[NTf_2^-]$, $[Ni(C_4IM)_4^{2+}]_2[NTf_2^-]$ e $[Ni(BeIM)_4^{2+}]_2[NTf_2^-]$) e foram analisadas com o HPLC-DAD. Foi possível a extração simultânea de 96 amostras, obtendo LODs entre 7,5 a 25 μ g L⁻¹, com elevada precisão, e alta porcentagem de recuperação.

Os MILs possuem alta versatilidade podendo ser encontrados em diversas aplicações como em catálise e degradação da celulose síntese de nanomateriais, absorção de gases e microfluídica, remediação ambiental, obtendo destaque na analítica em microextrações, sendo utilizados em diferentes tipos de amostras [32].

O uso do MIL em cromatografia (HPLC) é um desafio, pois sua alta viscosidade, causa o aumento exacerbado na pressão do sistema e na coluna cromatográfica. Um meio de contornar

esse problema é uso de solventes para dissolver o MIL antes das análises, diminuindo assim o seu fator de pré-concentração. Em GC e com o uso do pirolisador traz como vantagem a volatilização dos compostos antes de ser introduzidos na coluna cromatográfica, contornando os problemas associados aos fundos cromatográficos e à injeção direta de MILs em instrumentos de GC.

É relevante salientar que há um aumento no interesse de se usar os MILs em técnicas de microextração e, segundo uma extensa pesquisa na literatura, a técnica de DLLME que utiliza o MIL como fase extratora e a sua introdução de amostra usando um pirolisador ainda não foi descrita para amostras ambientais, como o lodo de esgoto.

1.7. Planejamento de experimento

Em geral, a otimização de variáveis experimentais é realizada por meio de procedimentos que avaliam o efeito de uma variável de forma individual (univariado). Tal processo apresenta limitações, como o tempo necessário para a otimização e a ausência de uma avaliação adequada das interações entre as variáveis que afetam o procedimento extrator em questão [33].

O uso de planejamento experimental multivariado é baseado em princípios estatísticos, ao ser utilizado, diminui a quantidade de experimentos a serem realizados quando comparado com o procedimento univariado. Para encontrar a condição ótima, abordagens multivariadas avaliam as influências de todas as variáveis ao mesmo tempo, dando-lhe o máximo de informação e previsões de condições que não foram testadas [34]–[36].

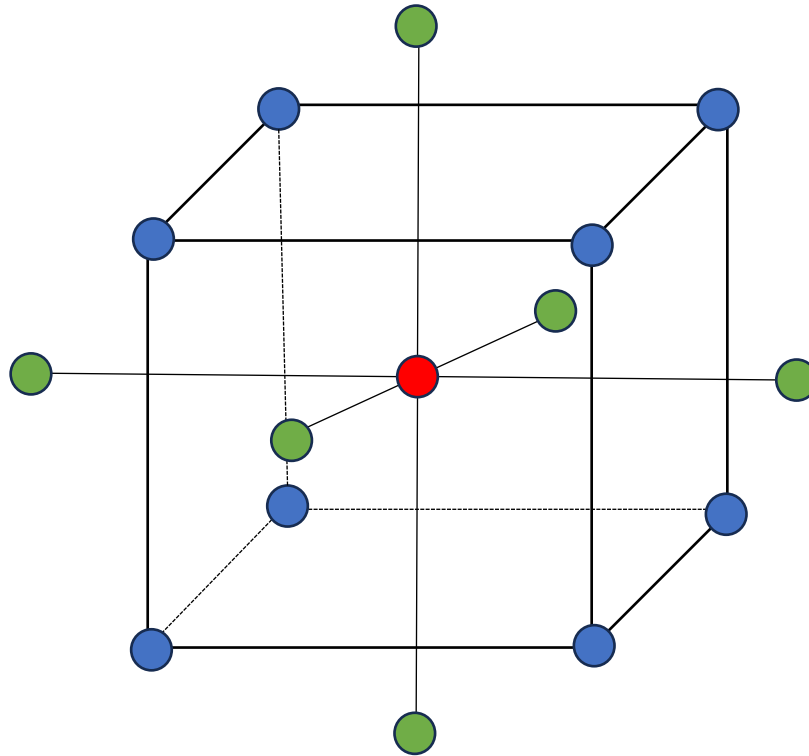
Com o planejamento fatorial completo pode-se medir os efeitos de uma ou mais variáveis na resposta do processo, sendo utilizado como uma triagem preliminar na qual identifica-se os fatores que influenciam na resposta analítica, sendo considerados como efeitos significativos. O planejamento de dois níveis pode ser representado como 2^k , sendo que 2 significa o número de níveis que por convenção são apresentados como -1 referente ao nível baixo, e +1 para o nível alto. O k refere-se ao número de fatores sendo no máximo 4 para o planejamento completo, e acima desse valor, utiliza-se o planejamento fracionário. Para a realização do planejamento fatorial completo são realizados os experimentos com todas as possíveis combinações, gerando uma listagem dessas combinações, chamada de matriz de planejamento, podendo ser codificada com os valores dos níveis (- ou +) [36], [37].

Para refinar e otimizar as condições ótimas de trabalhos podem ser utilizados experimentos mais complexos classificados como superfície de respostas, tais como, planejamento Doehlert, delineamento composto central (CCD) e planejamento de três níveis, tendo como exemplo o Box-Behnken, sendo possível de serem obtidos modelos estatísticos quadráticos em contraste aos obtidos a partir dos planejamentos fatoriais onde modelos lineares são gerados.

1.7.1. Delineamento composto central (CCD)

O delineamento composto central é uma otimização do planejamento fatorial completo, formado por três partes, conforme observado na Figura 6. A sua distribuição espacial, sendo uma parte fatorial contendo os pontos de coordenadas +1 e -1, a parte axial ou estrela formada por $2k$ com todas as coordenadas nulas, exceto uma, que é o ponto central (C_0). O número de experimentos para um delineamento composto central é $N=2k+2k+C_0$. Os valores dos pontos axiais ficam entre 1 e $\sqrt{k}$, quando o valor for $\sqrt{k}$, todos os pontos cúbicos e axiais estão sobre a superfície de uma esfera tridimensional e quando o valor for 1, os pontos axiais se localizam nos centros das faces da esfera tridimensional definida pela parte cúbica do planejamento. Conforme aumenta o número de fatores (k) aumenta a distância do ponto central [38], [39], [36].

Figura 6. Delineamento composto central sendo $k=3$ e axiais $\sqrt{3}$. As bolas azuis são a parte cúbica, as bolas verdes representam os pontos axiais e a bola vermelha representa o ponto central.

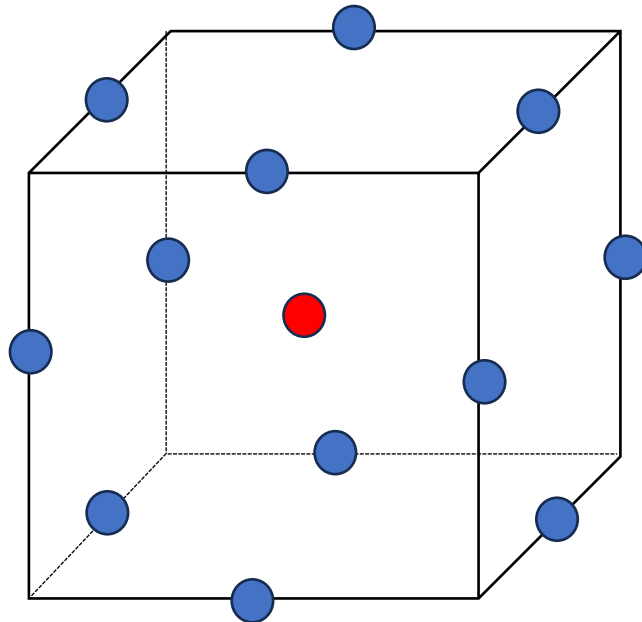


Fonte. Adaptado de BARROS NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2001.

1.7.2. Planejamento Box-Behnken

No Planejamento Box-Behnken o número de experimentos é reduzido e possui 3 níveis (-1, 0 e +1), os pontos experimentais estão localizados em uma esfera tridimensional equidistante do ponto central. Na Figura 7 está representado a distribuição espacial dos pontos experimentais para um planejamento com três variáveis. O número de experimentos (N) necessários para o desenvolvimento do planejamento Box-Behnken é definido como $N=2k(k-1) + C_0$ [39].

Figura 7. Distribuição espacial dos pontos experimentais de um planejamento Box-Behnken para otimização de $k=3$.



Fonte. Adaptado de Ferreira *et al.*, 2007.

2. OBJETIVO

Preparar, caracterizar e aplicar os líquidos iônicos magnéticos (MILs) como solvente extrator em DLLME para determinar PBDEs em amostras de lodo de esgoto.

2.1. Objetivos Específicos

- Desenvolver método para determinar os analitos PBDE 29, PBDE 47, PBDE 99, PBDE 100, PBDE 153 utilizando Py-GC-MS;
- Preparar e caracterizar o MIL;
- Otimizar o preparo de amostra aplicando o MIL como solvente extrator;
- Avaliar as figuras de mérito do método como precisão, limite de detecção (LOD), limite de quantificação (LOQ) e linearidade segundo as normativas e guias de validação;
- Aplicar o método para determinar os analitos em amostras de lodo de estação de tratamento de esgoto.

3. METODOLOGIA

3.1. Materiais e adequação dos métodos utilizados

Os padrões analíticos PBDE 28, PBDE 47, PBDE 99, BrB e o padrão interno BrB-D5 são padrões de alta pureza ($\geq 99,5\%$) adquiridos da Sigma-Aldrich com alta pureza ($\geq 99,5\%$). O PBDE 100 e PBDE 153 provenientes da AccuStandard (New Haven, EUA) foram fornecidos pelo professor Dr Daniel Dorta da USP- Campus de Ribeirão Preto. Todos os padrões foram diluídos em hexano grau HPLC da J.T. Baker (Center Valley, Pensilvânia). Os solventes utilizados como acetonitrila (ACN) e metanol (MeOH), grau HPLC da J.T.Baker (Center Valley, Pensilvânia). A água deionizada (ultrapura) utilizada para os experimentos e diluições da amostra foi obtida através de um sistema Milli-Q (Millipore) sendo a condutividade de $0,05\ \mu\text{S cm}^{-1}$ e a resistividade de $18,2\ \text{M}\Omega$.

O líquido iônico cloreto de trihexiltetradecilfosfônio ($[\text{P}_{6,6,6,14}^+][\text{Cl}^-]$) e o sal de cloreto de manganês (II) tetra hidratado ($\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) adquiridos da Sigma-Aldrich (Missouro, EUA). Ímã de neodímio cilindro 5x16 mm força aproximadamente 910g (São Paulo, Brasil).

As análises cromatográficas foram realizadas em um cromatógrafo a gás GCMSQP2010 Shimadzu (Kyoto, Japão). Utilizando a coluna cromatográfica Ultra ALLOY (composição 5% difenil, 95% dimetilpolisiloxano, comprimento de 30 m, diâmetro de 0,25 mm, espessura de 0,25 μm). Na etapa de introdução da amostra foi utilizado o pirolisador da Frontier Lab (Koriyama, Japão).

O medidor de pH utilizado foi da Tecnal (Piracicaba, Brasil), devidamente calibrado com soluções de pH 4 e pH 7 adquiridos da Neon (Suzano, Brasil). A análise de Turbidez foi realizada no Turbidímetro Bancada II/ Plus II da Alfakit (Florianópolis, Brasil). A condutividade foi realizada no medidor de pH e a balança analítica série AG245 ambos da METTLER-TOLEDO Seven Easy (Ohio, EUA). A análise de demanda química de oxigênio (DQO) foi realizada em parceria com o professor Dr. Arnaldo Sarti do Instituto de química UNESP-Araraquara, e seguiu o protocolo APHA / AWWA / WEF. A análise de carbono orgânico total (TOC) foi realizado no analisador de carbono orgânico total série TOC-L versão 1.10.00 da Shimadzu (Kyoto, Japão).

Para a filtração da amostra foi utilizado um sistema de filtração com bomba a vácuo e papel de filtro qualitativo. A centrifuga utilizada foi a universal 320 R, adquirida da Hettich zentrifugen (Tuttlingen, Alemanha).

3.2. Separação cromatográfica

Para realização do desenvolvimento do método cromatográfico foi utilizado o pirolisador na etapa de introdução da amostra (Py-GC-MS) e o GC/MS no modo SCAN sendo uma condição cromatográfica exploratória a fim de determinar o tempo de retenção de cada analito individualmente, e verificar os espectros. Após esse primeiro experimento foi realizada a análise simultânea dos mesmos. Após as análises exploratórias, diversas rampas de aquecimento foram utilizadas para encontrar as melhores condições de separação cromatográfica. Os íons para o monitoramento foram selecionados para cada analito considerando os espectros de massas nas análises por Py-GC-MS (SCAN), e comparados com espectros encontrados na literatura. Em seguida, foram selecionados os principais íons fragmentos, sendo usado o modo SIM. Foram monitorados mais de três íons fragmentos para serem usados na etapa de quantificação e qualificação dos analitos. O íon fragmento de maior intensidade foi selecionado para etapa de quantificação.

Para isso, foram preparadas soluções estoques de cada analito em hexano na concentração de 1000 mg L^{-1} e diluídas em metanol (MeOH) de forma a obter a concentração de $20,0 \text{ mg L}^{-1}$ e $6,00 \text{ mg L}^{-1}$. O pirolisador e sua interface foram mantidas a $220 \text{ }^{\circ}\text{C}$ por 0,60 min, e o volume de amostra usado foi de $9,00 \text{ }\mu\text{L}$.

No GC a temperatura do injetor selecionada foi de $300 \text{ }^{\circ}\text{C}$ utilizando o modo splitless com tempo de amostragem de 2 min. A temperatura da coluna cromatográfica iniciou a $40 \text{ }^{\circ}\text{C}$, permanecendo por 1 min, subindo à temperatura de $320 \text{ }^{\circ}\text{C}$ em uma taxa de aquecimento de $40 \text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$, permanecendo nessa temperatura por 4 minutos. O tempo total da corrida cromatográfica foi de 12 min.

A detecção por espectrometria de massas (MS) utilizada foi a ionização por elétrons (EI) a 70 eV, a temperatura de $230 \text{ }^{\circ}\text{C}$ e $320 \text{ }^{\circ}\text{C}$ na interface e câmara de íons, respectivamente. O intervalo para uma única varredura foi de 0,20 segundos. Dois modos foram usados, modo varredura de íons (SCAN) e o modo íons selecionados (SIM), principalmente para aumentar a seletividade. No modo SIM, o sinal analítico foi adquirido em janelas de detecção no MS, fazendo com que o detector adquirisse os íons de interesse somente na faixa de tempo selecionada (Tabela 3).

Tabela 3. Janelas de detecção utilizadas no modo SIM.

Início (min)	Final (min)	Íons selecionados m/z
8,00	8,85	407, 247, 139, 246
8,95	9,50	488, 486, 326, 162
9,55	10,25	565, 566, 563, 405, 404
10,40	11,50	483, 484, 482

Fonte. Elaborado pela autora (2023).

A eficiência do método cromatográfico foi avaliada utilizando a resolução e a sua capacidade de separação. Foram calculados os fatores de assimetria (A_s) dos picos cromatográficos sendo calculadas a 10% da altura do pico, utilizando a razão entre as larguras dos picos. O fator de alargamento (TF) dos picos cromatográficos foram calculadas utilizando 5 % da altura do pico sendo a somatória das larguras A e B divididos por duas vezes a largura da A [40].

Para a resolução (R_s) foram utilizados os analitos adjacentes PBDE 99 e PBDE 100, sendo calculado de acordo com a Fórmula 1 a seguir:

$$R_s = 1,177 \frac{\Delta d}{W_{h_1} + W_{h_2}} (1)$$

Sendo Δd a distância entre os dois picos cromatográficos adjacentes, e W_{h_1} e W_{h_2} a medida da base na meia altura de ambos os picos cromatográficos.

3.3. Figuras de qualidade do método proposto

As figuras de qualidade ou figuras de mérito do método foram selecionadas de acordo com os critérios recomendados pelos órgãos regulamentados ANVISA, INMETRO e FDA. O protocolo foi adaptado por inexistência de guias específicas para tal análise. Foram monitorados de três a quatro íons dependendo de cada analito, para auxiliar em sua confirmação. O íon de maior intensidade foi utilizado na quantificação.

As figuras de mérito do método como precisão inter-dias, limite de detecção (LOD), limite de quantificação (LOQ), efeito de matriz, recuperação, eficiência de extração e linearidade foram avaliadas [41], [42], [43].

O limite de detecção (LOD) foi definido como sendo três vezes a relação sinal/ruído e o limite de quantificação (LOQ) como sendo no mínimo dez vezes a relação sinal/ruído com precisão aceitável de $RSD \leq 20 \%$ e determinados baseados nos parâmetros, seguindo as recomendações da ANVISA. Foram também calculados o coeficiente angular e linear da equação da reta obtida da curva analítica de cada analito estudado.

Foi avaliada a precisão inter-dias no qual foram realizadas as análises em dias diferentes com o mesmo operador e mesmo equipamento. Foi calculada utilizando a razão entre o desvio padrão das respostas obtidas pela média aritmética das determinações e multiplicada por cem. As respostas foram consideradas aceitáveis sendo $RSD \leq 20 \%$.

A avaliação da linearidade foi realizada por calibração externa e adição de padrão dos analitos em cinco ou seis níveis de concentrações crescentes em solvente (hexano) e amostra de lodo.

A faixa dinâmica linear de cada analito foi avaliada segundo a análise de variância (ANOVA) e avaliou se há existência de falta de ajuste assegurando assim, a linearidade adequada do modelo proposto.

Para a confirmação de analitos estudados na amostra, foi utilizado os critérios de confirmação da identidade de um composto, no qual foi comparado o tempo de retenção. Além disso, a amostra foi analisada pelo método de adição de padrão, sendo observado o aumento do pico cromatográfico. E por último, foi feita a avaliação da relação dos íons individuais com diferentes razões massa/carga de cada analito, sendo comparado a relação do íon de quantificação com os demais íons fragmentos selecionados presentes no padrão da substância versus a mesma relação desses íons na amostra de lodo. Para isso foram utilizadas as áreas dos íons individuais, sendo recomendado que essa relação não ultrapasse 10 % quando comparados os valores obtidos na amostra com relação aos valores do padrão da substância [44], [45].

3.4. Preparo e caracterização do MIL ($[P_{66614}^+]_2[MnCl_4^{2-}]$)

Neste estudo foi utilizado o MIL trihexil(tetradecil)fosfônio tetracloromanganês ($[P_{66614}^+]_2[MnCl_4^{2-}]$) que foi preparado segundo o procedimento descrito por Merib et al. (2018). Para o procedimento, pesou-se 10 g do precursor cloreto de trihexiltetradecilfosfônio ($[P_{6,6,6,14}^+][Cl^-]$) (2 equivalente) e 2,0 g do sal cloreto de manganês (II) tetra hidratado ($MnCl_2 \cdot 4H_2O$) (1 equivalente) ambos dissolvidos em diclorometano 13,3 mL e 21,3 mL

respectivamente, adicionou-se uma pequena quantidade de água deionizada para a solubilização total cloreto de manganês. A reação ficou sob agitação sem aquecimento por 24 horas. Foi retirada a fase orgânica, e descartada a fase aquosa. Para a realização da purificação, foi retirado o excesso do sal ($\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$), com água deionizada e por último, foi seco em estufa com temperatura de 70 °C por 24 horas [30]. O MIL foi caracterizado por análise de espectrofotometria UV-Visível, espectroscopia de absorção na região do infravermelho (FTIR), espectroscopia de espalhamento Raman e análise de termogravimétrica (TG).

A análise de espectrometria UV-Vis, o MIL e o precursor $[\text{P}_{6,6,6,14}^+][\text{Cl}^-]$ foram diluídos em acetonitrila (ACN) na concentração de 67,4 mg mL⁻¹, a faixa de varredura foi de 200 - 700 nm. Na espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) foram analisados os padrões puros sem nenhuma diluição sendo realizados 64 scans varrendo uma faixa de 400 - 4000 cm⁻¹ com resolução de 4 cm⁻¹. A espectroscopia de espalhamento Raman é uma técnica complementar ao infravermelho, as análises foram realizadas com os padrões puros com o laser de 632,8 nm, 40 s de aquisição, 2 varreduras e a resolução do equipamento de 1 cm⁻¹. A análise de termogravimétrica (TG) foi utilizado uma massa de 2,66 g do MIL e foi realizado em meio de nitrogênio 50 mL min⁻¹ com rampa de aquecimento início 30 °C até 800 °C com taxa de aquecimento de 10 °C min⁻¹ e foi utilizado cadinho de alumina.

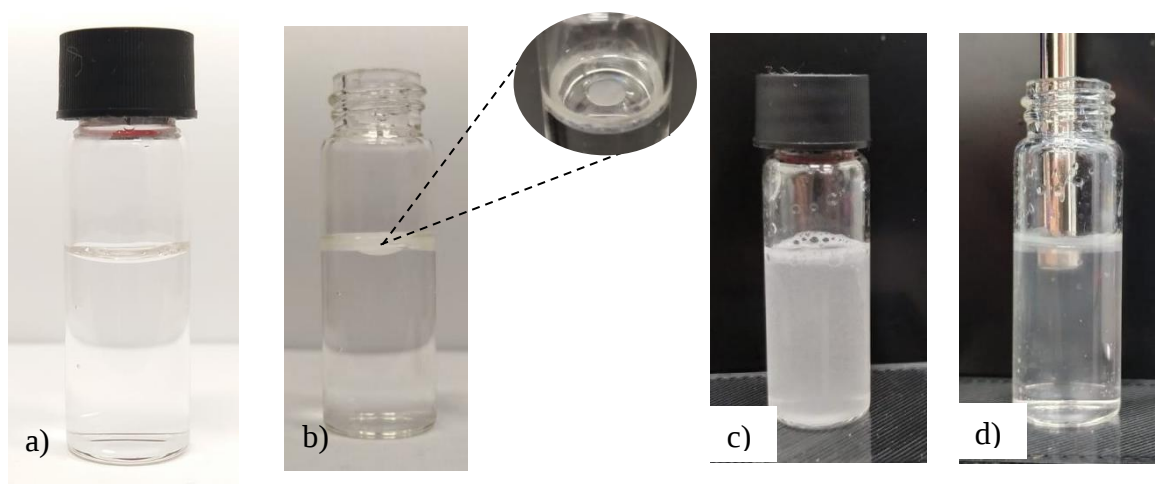
3.5. Preparo de amostra DLLME/MIL

Para as amostras de água, a princípio foi utilizado uma adaptação da microextração DLLME, como é observada na Figura 8. O MIL teve sua capacidade extrativa avaliada utilizando água ultrapura como sendo a amostra aquosa, foi fortificada com os analitos PBDE 28, PBDE 47, PBDE 99, PBDE 100, PBDE 153, BrB e BrB-D5. Pesou-se 10 mg de MIL dissolveu-se em 3 µL de ACN, e foi adicionado com o auxílio de uma micropipeta essa quantidade a 8,50 mL de amostra aquosa fortificada com 500 µg L⁻¹ dos PBDEs. Para a fortificação foi adicionado o volume de 43,0 µL de cada PBDEs na amostra e foi utilizado as soluções intermediárias dos PBDEs na concentração de 100 mg L⁻¹ em MeOH.

Ao introduzir o líquido iônico MIL como solvente extrator na amostra, foi prontamente observado seu comportamento hidrofóbico, evidenciado pelo acúmulo imediato nas paredes do recipiente de amostra. Posteriormente, uma agitação suave foi realizada por um período de 60 segundos, resultando na turvação da solução. Para efetuar a separação da fase extratora (MIL) da amostra, empregou-se um ímã cilíndrico de neodímio N35 (5 x 16 mm). Após essa etapa, o MIL recuperado foi dissolvido em 20,0 µL de metanol (MeOH) e preparado para análise por

cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas tendo um pirolisador para introduzir a amostra (Py-GC-MS). As variáveis críticas do processo de preparo de amostra, tais como temperatura e tempo de extração, foram otimizadas por meio de um planejamento experimental.

Figura 8. Ilustração do processo de DLLME usando o MIL como solvente extrator. a) Amostra aquosa fortificada com $500 \mu\text{g L}^{-1}$ dos analitos em MeOH. b) Adição do MIL na amostra diluído em ACN. c) Amostra turva após 120 segundos de agitação manual. d) Recolhimento do MIL contendo os analitos de interesse com o auxílio do ímã de neodímio.



Fonte: Elaborado pela autora (2023).

3.6. Avaliação da influência de temperatura na análise dos PBDEs usando pirolisador

O estudo da influência da temperatura na análise do PBDE 28, PBDE 47, PBDE 99, PBDE 100 e PBDE 153 foi realizado utilizando um mix dos analitos na concentração de $2,00 \text{ mg L}^{-1}$ em MeOH. Foram adicionados $10,0 \mu\text{L}$ do mix no copo amostrador do pirolisador e com o auxílio de um secador comercial foi lançado um jato de ar quente para a remoção do solvente. Seguiu as seguintes temperaturas para o pirolisador 180°C , 200°C , 250°C , 280°C , 300°C , 320°C , 350°C e 380°C , mantendo o tempo de $0,20 \text{ min}$ de pirolise.

3.7. Otimização da introdução da amostra no pirolisador

Para a otimização da injeção foram utilizadas abordagens multivariadas. A princípio foi realizado um planejamento fatorial completo 2^3 , sendo avaliadas as variáveis temperatura,

tempo do pirólisador e o volume de injeção. Cada variável foi avaliada em dois níveis, nível inferior (-1) e nível superior (1), como descrito na Tabela 4. Os experimentos foram realizados de forma aleatória para evitar erros sistemáticos e a resposta monitorada foi o íon mais intenso do PBDE 153, por ser o analito de menor intensidade. As análises foram efetuadas com a injeção do mix dos padrões na concentração de 6,00 mg L⁻¹.

Tabela 4. Variáveis e níveis utilizados no planejamento 2³ para otimização da introdução da amostra no pirólisador.

Variáveis	Nível inferior (-1)	Nível superior (1)
Temperatura / °C	180	250
Tempo / min	0,20	1,00
Volume / µL	5,00	10,0

Fonte. Elaborado pela autora (2023).

Foram realizados 8 experimentos, com as possíveis combinações dos níveis escolhidos das variáveis estudadas sendo realizados de forma aleatória para evitar erros sistemáticos e a resposta monitorada foi a $m/z = 484$ referentes ao íon mais intenso do PBDE 153. As análises foram efetuadas com a injeção do mix dos padrões na concentração de 6,00 mg L⁻¹, a Tabela 5 descreve a matriz dos experimentos.

Tabela 5. Matriz codificada referente aos experimentos do planejamento fatorial completo 2³ aplicado na otimização da introdução da amostra no pirólisador.

Experimentos	Temperatura / °C	Tempo / min	Volume / µL
1	-1	-1	-1
2	1	-1	-1
3	-1	1	-1
4	1	1	-1
5	-1	-1	1
6	1	-1	1
7	-1	1	1
8	1	1	1

Fonte. Elaborado pela autora (2023).

Posteriormente foi realizado o planejamento de Box-Behnken, para refinar as variáveis significativas e obter a condição ótima da introdução da amostra. No planejamento de Box-Behnken contém um composto central, no qual acrescenta-se o valor intermediário que é

representado por zero (0) conforme demonstrado na Tabela 6. No total foram realizados 15 experimentos, a Tabela 7 apresenta a matriz dos experimentos de Box-Behnken.

Tabela 6. Variáveis e níveis utilizados no planejamento de Box-Behnken.

Variáveis	Nível inferior (-1)	Ponto central (0)	Nível superior (1)
Temperatura (°C)	180	215	250
Tempo (min)	0,20	0,60	1,00
Volume (µL)	5,00	7,50	10,0

Fonte. Elaborado pela autora (2023).

Tabela 7. Matriz codificada referente aos experimentos feitos no planejamento de Box-Behnken.

Experimentos	Temperatura (°C)	Tempo (min)	Volume (µL)
1	0	0	0
2	0	0	0
3	0	0	0
4	-1	-1	0
5	1	-1	0
6	-1	1	0
7	1	1	0
8	-1	0	-1
9	1	0	-1
10	-1	0	1
11	1	0	1
12	0	-1	-1
13	0	1	-1
14	0	-1	1
15	0	1	1

Fonte. Elaborado pela autora (2023).

3.8. Otimização da extração DLLME/MIL

Após a otimização da injeção foram realizadas a otimização da DLLME. Nesta etapa os experimentos da DLLME foram utilizados a água ultrapura como sendo a amostra e a fração líquida do lodo.

O experimento com a água ultrapura foi realizado utilizando o planejamento fatorial completo 2^4 , sendo um total de 16 experimentos, nos quais foram estudadas as variáveis tempo de extração (1,00 – 4,00 minutos), volume de amostra (2,00 – 6,00 mL), volume do solvente dispersor (5,00 – 45,0 μ L) e massa do MIL (20,0 – 60,0 mg). A Tabela 8 demonstra a matriz codificada de experimentos para as diversas combinações de variáveis.

Tabela 8. Matriz codificada referente aos experimentos do planejamento fatorial completo 2^4 para a otimização da extração DLLME/MIL em água.

Experimentos	Tempo	Volume de solvente dispersor	Amostra	Massa MIL
1	-1	-1	-1	-1
2	1	-1	-1	-1
3	-1	1	-1	-1
4	1	1	-1	-1
5	-1	-1	1	-1
6	1	-1	1	-1
7	-1	1	1	-1
8	1	1	1	-1
9	-1	-1	1	1
10	1	-1	-1	1
11	-1	1	-1	1
12	1	1	-1	1
13	-1	-1	-1	1
14	1	-1	1	1
15	-1	1	1	1
16	1	1	1	1

Fonte. Elaborado pela autora (2023).

Após o planejamento fatorial completo, as variáveis significativas nesse experimento, foram otimizadas usando o delineamento do composto central (CCD), no qual possuem os

valores axiais $\pm 1,68$, sendo um total de 17 experimentos. Na Tabela 9 estão representados os valores das variáveis estudadas e na Tabela 10 demonstra a matriz codificada de experimentos para as diversas combinações de variáveis.

Tabela 9. Níveis utilizados no planejamento CCD para otimização da DLLME/MIL em água.

Variáveis	Nível inferior axial (-1,68)	Nível inferior (-1)	Ponto central (0)	Nível superior (1)	Nível superior axial (1,68)
Massa MIL / mg	12,0	14,0	17,0	20,0	22,0
Volume de solvente dispersor / μL	3,30	4,00	5,00	6,00	6,70
Volume de amostra / mL	5,30	6,00	7,00	8,00	8,70

Fonte. Elaborado pela autora (2023).

Tabela 10. Matriz codificada para o planejamento CCD para a DLLME/MIL em água.

Experimentos	Massa de MIL	Volume de solvente Dispersor	Volume de amostra
1	-1	-1	-1
2	-1	-1	1
3	-1	1	-1
4	-1	1	1
5	1	-1	-1
6	1	-1	1
7	1	1	-1
8	1	1	1
9	-1,68	0	0
10	1,68	0	0
11	0	-1,68	0
12	0	1,68	0
13	0	0	-1,68
14	0	0	1,68
15	0	0	0
16	0	0	0
17	0	0	0

Fonte. Elaborado pela autora (2023).

3.9. Estudo Solubilidade MIL

Para que o MIL não se solubilize completamente no solvente dispersor foi realizado um teste univariado de solubilidade no qual utilizou-se um volume de 2,00 mL de água ultrapura com 100 µL de MeOH, referente ao volume utilizado para a fortificação dos analitos. Foram adicionados 20,0 mg de MIL com 5,00 µL de acetonitrila (solvente dispersor). Agitados por 1,00 minuto e repouso de 10,0 minutos. Para cada teste aumentou-se o volume de ACN em alíquotas de 20,0 µL até o volume máximo de 505 µL de ACN.

3.10. Amostras de lodo

As amostras de lodo e de água residuária foram coletadas de uma empresa de São Carlos-SP do ramo de material para escritório, e que possui estação própria de tratamento de esgoto (ETE). Os efluentes gerados seguem por duas vias separadas (efluente sanitário e efluente industrial). Segundo a empresa o atual sistema permite que, em eventual necessidade, o sobrenadante do efluente industrial tratado seja misturado ao sanitário sem tratamento para que ambos recebam tratamento nos tanques biológicos, e sejam descartados diretamente na rede coletora do município, e passem pelo tratamento na ETE do município.

As amostras foram coletadas em três pontos antes do tratamento da estação. A primeira amostra foi coletada do tanque do sanitário, durante o processo de aeração no qual a água é agitada e o lodo do fundo do tanque sobe para a superfície. A segunda amostra foi coletada por uma abertura no fundo do mesmo tanque, e a terceira amostra foi do tanque do físico-químico. Após as coletas as amostras foram centrifugadas, filtradas com papel filtro qualitativo separadamente e depois foram misturadas formando assim um pool de amostra, sendo armazenadas em sob refrigeração até serem analisadas. A caracterização do lodo foi realizada com parâmetros físico-químico: pH, carbono orgânico total, demanda química de oxigênio, condutividade e turbidez.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

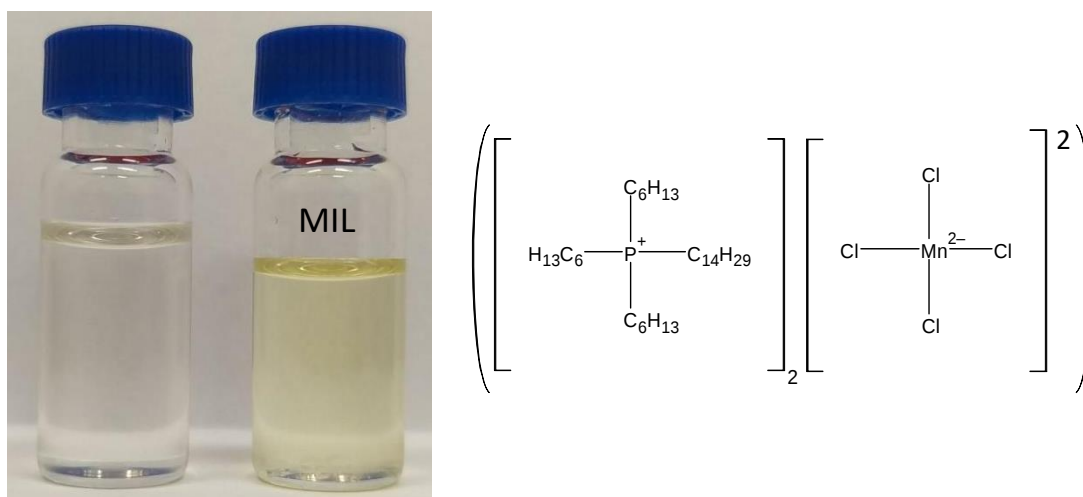
4.1. Caracterização MIL

Em virtude dos relatos previamente documentados na literatura acerca da aplicação do líquido iônico MIL ($[P_{6,6,6,14}]_2[MnCl_4]^{2-}$) como solvente extrator em procedimentos analíticos

voltados à determinação de hormônios e herbicidas em diversas matrizes ambientais, surge o interesse em investigar sua eficácia na extração de retardantes de chama polibromados (PBDEs) em amostras de lodo de esgoto. A seleção desse solvente se fundamenta em sua notável hidrofobicidade, destacando-se como uma escolha pertinente para a análise de compostos de natureza lipofílica, como os PBDEs.

Após o preparo do MIL ($[P_{6,6,6,14}^+]_2[MnCl_4^{2-}]$), foi obtido um líquido viscoso de coloração amarela. Na Figura 9 pode-se comparar a diferença de coloração do MIL e do precursor IL.

Figura 9. Foto do reagente trihexiltetradecilfosfônio (precursor IL), o MIL ($[P_{6,6,6,14}^+]_2[MnCl_4^{2-}]$) preparado e sua estrutura descrita por Santos 2013.



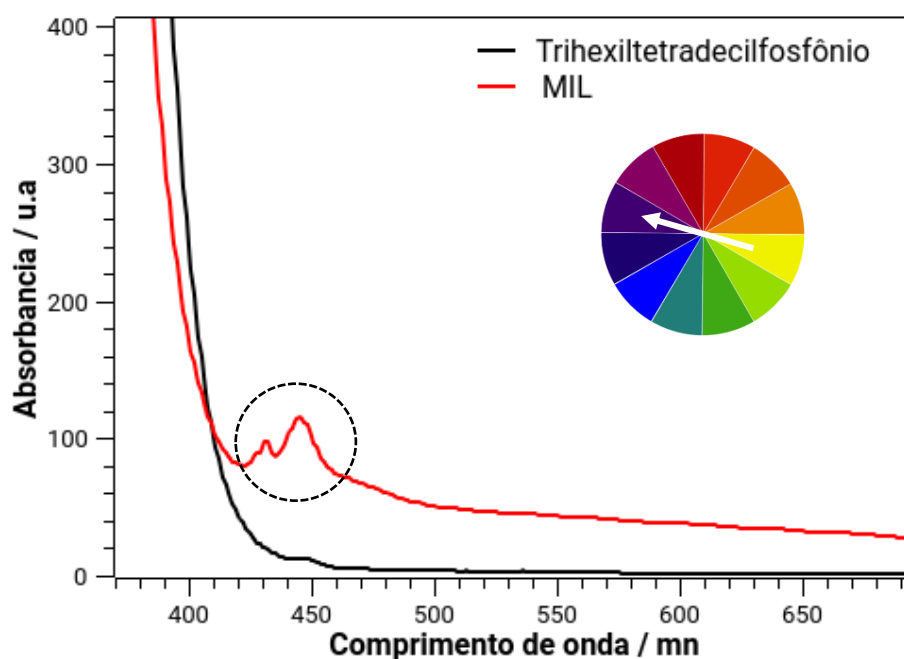
Fonte. Elaborado pela autora (2023).

Foram realizados testes para a confirmação da incorporação do componente magnético e a caracterização do MIL ($[P_{6,6,6,14}^+]_2[MnCl_4^{2-}]$). Inicialmente, foi realizado o teste para observar se obtém resposta do MIL há um campo magnético externo, colocando uma gota do MIL sintetizado no béquer com água deionizada (Milli-Q). O MIL é hidrofóbico assim com o auxílio de um ímã de neodímio, foi observado a sua resposta mediante a aplicação de campo magnético movimentando-se pela superfície da água. A suscetibilidade magnética do MIL foi estudada por Santos e colaboradores (2014) no qual foi observado o comportamento paramagnético de $4,23 \text{ emu K mol}^{-1}$ [46].

A interpretação dos espectros de absorção UV-Vis do precursor $[P_{6,6,6,14}^+][Cl^-]$ e MIL foram analisadas por comparação dos espectros. Especificamente, a comparação envolvendo o

cloreto de manganês não foi realizada, pois este não é totalmente solúvel em acetonitrila, e seria necessário a adição de água para a completa dissolução. Pode-se observar na Figura 10 uma diferença nos espectros do MIL sintetizado ($[\text{P}_{6,6,6,14}^+]_2[\text{MnCl}_4^{2-}]$) e do precursor $[\text{P}_{6,6,6,14}^+][\text{Cl}^-]$, principalmente na região entre 425 nm e 465 nm referente ao íon manganês. Outro fato interessante, segundo o conceito de cores observadas e absorvidas (cores complementares), percebe-se que a coloração do MIL sintetizado é amarelada (Figura 9), logo sabe-se que a cor complementar seria a azul-violeta com comprimento de onda de absorção em torno de 440 nm.

Figura 10. Comparação dos espectros UV-Vis do precursor trihexiltetradecilfosfônio $[\text{P}_{6,6,6,14}^+][\text{Cl}^-]$ (linha preta) e do MIL sintetizado ($[\text{P}_{6,6,6,14}^+]_2[\text{MnCl}_4^{2-}]$).

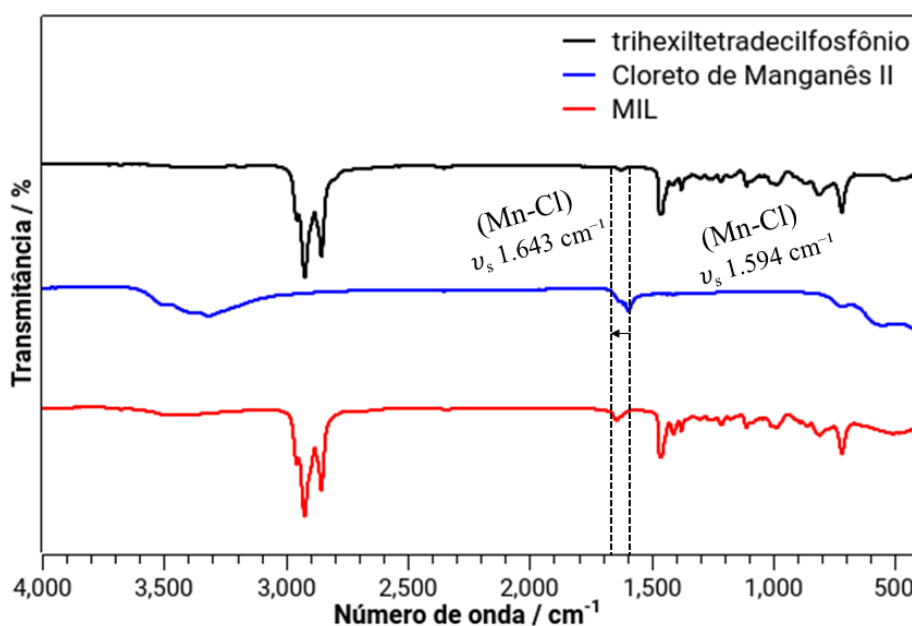


Fonte. Elaborado pela autora (2023).

Para complementar a caracterização do MIL foram realizadas análises de espectroscopia de absorção na região do infravermelho (FTIR) e espectroscopia de espalhamento Raman. Os modos vibracionais observados no espectro de FTIR (Figura 11) na região entre 2900 - 2800 cm^{-1} referem-se ao precursor cloreto de trihexiltetradecilfosfônio ($[\text{P}_{6,6,6,14}^+][\text{Cl}^-]$) e o MIL ($[\text{P}_{6,6,6,14}^+]_2[\text{MnCl}_4^{2-}]$) estão relacionadas ao estiramento simétrico C-H (ν C-H). O estiramento simétrico O-H (ν O-H) (entre 3600 - 3000 cm^{-1}) é proveniente de moléculas de água, uma vez que o sal precursor ($\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$). Por outro lado, na mesma região observa-se que o (ν O-H) não é observado no espectro FTIR do MIL. Verifica-se a presença de uma banda de baixa intensidade em aproximadamente 1594 cm^{-1} atribuída ao modo vibracional referente ao

estiramento simétrico, enquanto que no espectro FTIR do MIL o mesmo modo vibracional é observado em 1643 cm^{-1} . Neste caso, observa-se um deslocamento do modo simétrico para regiões de maior número de onda, o que indica a ocorrência de interações químicas entre os precursores [47].

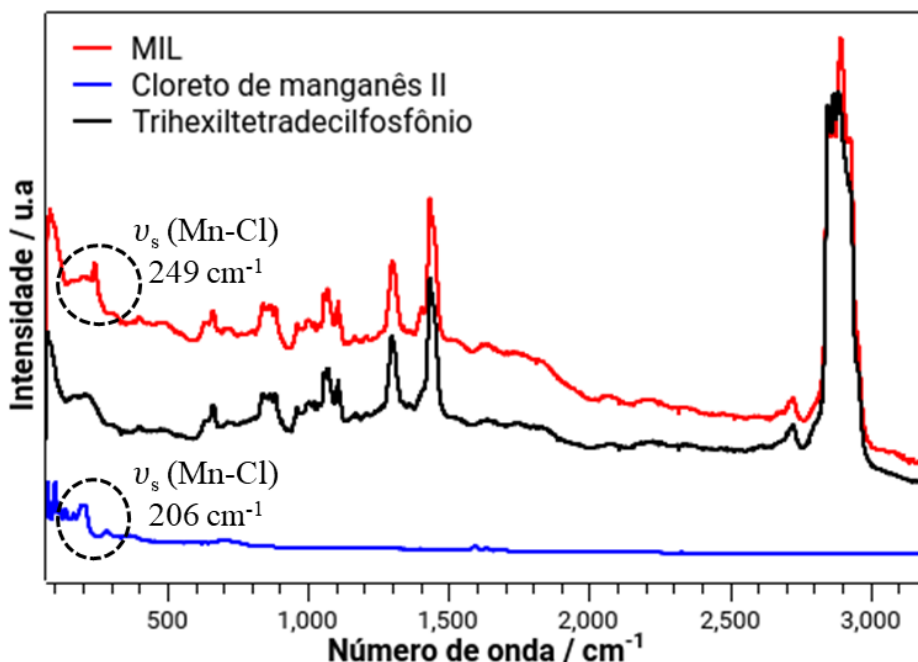
Figura 11. Espectro de FTIR do MIL (linha vermelha) e dos seus precursores (trihexiltetradecilfosfônio linha preta e o sal cloreto de manganês (linha azul). (Resolução espectral: 4 cm^{-1} FTIR).



Fonte. Elaborado pela autora (2023).

A espectroscopia Raman trata-se de uma técnica espectroscópica que usa uma fonte de luz monocromática, que ao colidir (fótons) com a amostra, é espalhada gerando luz de energia igual ou diferente do incidente (espalhamento elástico ou inelástico). Pesquisadores apontam que a frequência de vibração da ligação Mn-Cl ocorre em aproximadamente 290 cm^{-1} . A partir da análise dos espectros Raman (Figura 12), verifica-se que a mesma vibração que há no cloreto de manganês em 206 cm^{-1} está similarmente presente no MIL em 249 cm^{-1} e ausente no precursor trihexiltetradecilfosfônio. Assim como nos espectros FTIR, verifica-se um deslocamento do modo vibracional simétrico, o que demonstra a presença do Mn-Cl na estrutura do MIL [48].

Figura 12. Espectro Raman do MIL (linha vermelha) e de seus precursores (trihexiltetradecilfosfônio linha preta e o sal cloreto de manganês linha azul). (Resolução espectral: 4 cm^{-1} FTIR e 1 cm^{-1} Raman).



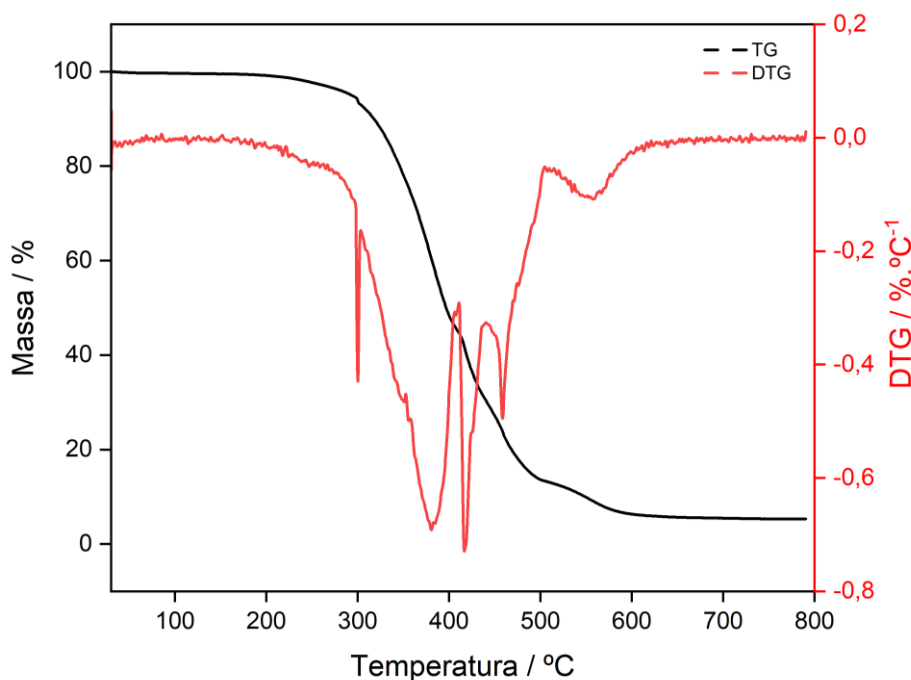
Fonte. Elaborado pela autora (2023).

Com o interesse de avaliar a temperatura de degradação do MIL realizou-se análise de termogravimetria (TG). A TG é uma técnica que verifica a variação da massa de uma amostra em função da temperatura, existem alguns tipos de análise TG, na qual a amostra é aquecida em um ambiente de nitrogênio e a mudança de temperatura ocorre linearmente. A taxa de aquecimento que utilizamos foi de $10,0\text{ }^{\circ}\text{C}$ até $800\text{ }^{\circ}\text{C}$. Pode-se observar na Figura 13 que na temperatura de $193,0\text{ }^{\circ}\text{C}$ começa uma pequena inclinação na curva, sendo assim, considerado o início da degradação do MIL e em $618,1\text{ }^{\circ}\text{C}$ atinge seu valor máximo de perda de massa restando, cerca de $5,99\%$ de massa inorgânica, indicando o final da reação. Com isso, obtivemos $94,0\%$ de MIL degradado, sendo uma composição grande de massa orgânica. O resultado está em concordância com os apresentados na literatura na qual indica uma boa estabilidade térmica [46].

A derivada da TG (DTG) é capaz de calcular os eventos observados na curva da TG, que representam as variações de massa verificadas na amostra. Ao realizar a DTG podemos observar que ficam mais visíveis em quantas etapas ocorre a perda de massa do MIL. Na curva da TG observa-se que a decomposição térmica do MIL ocorre em uma única etapa começando com um processo mais lento e seguido por um processo rápido, no entanto na curva da DTG

evidencia que a decomposição térmica do MIL acontece em 5 etapas consecutivas de perda de massa sendo elas nas temperaturas 299,4 °C; 380,2 °C; 416,7 °C; 457,1 °C; 557,2 °C; respectivamente [49].

Figura 13. Termograma obtido pela análise do MIL (linha preta) e a sua derivada (linha vermelha).



Fonte. Elaborado pela autora (2023).

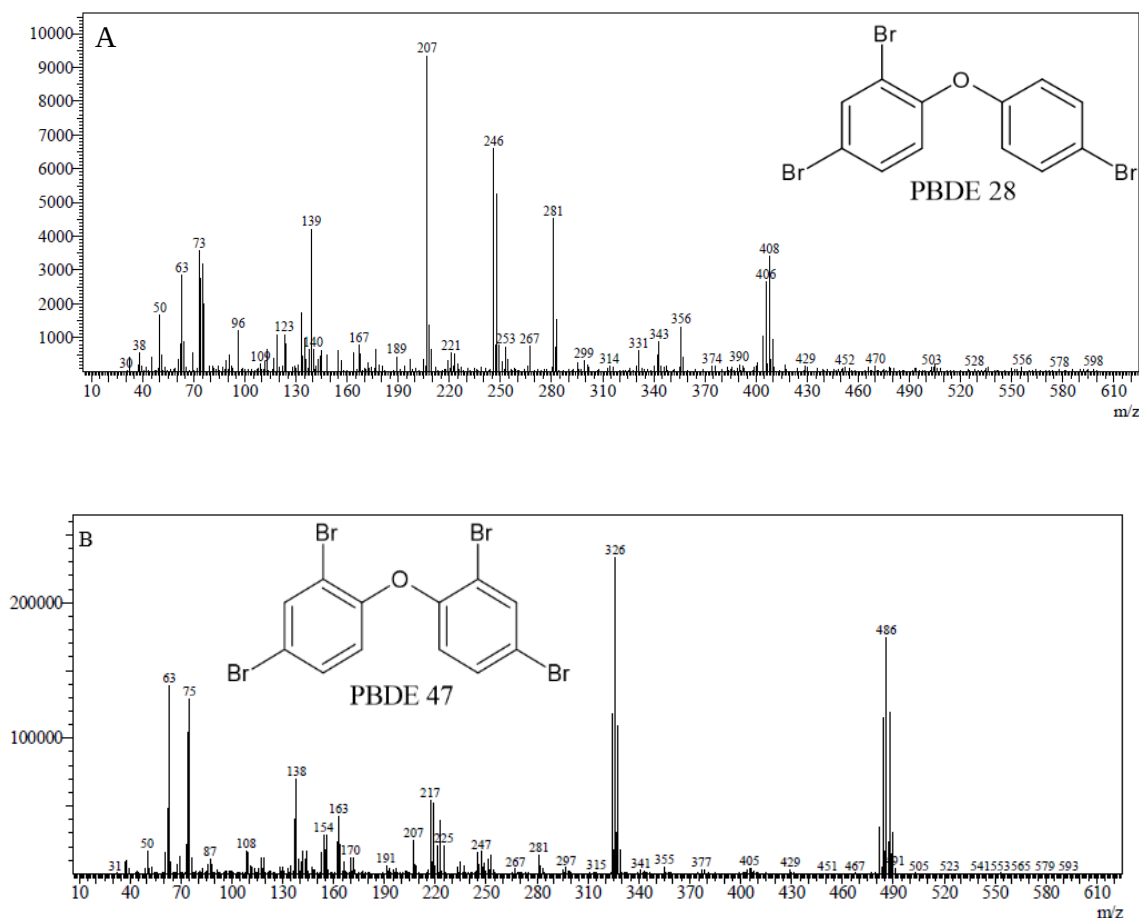
Com a análise da TG nos auxiliou na identificação da faixa de trabalho que foi utilizada para a otimização da injeção com o pirolisador, pois o intuito não é a degradação do material, e sim que os analitos presentes, volatilizem para serem analisados no GC/MS. Por esse motivo a temperatura do pirolisador não ultrapassou 250 °C que, conforme observado na Figura 13, precede o primeiro evento de perda de massa. Assim, através desta análise, foi possível realizar a análise no GC/MS, sem causar a degradação do MIL no pirolisador.

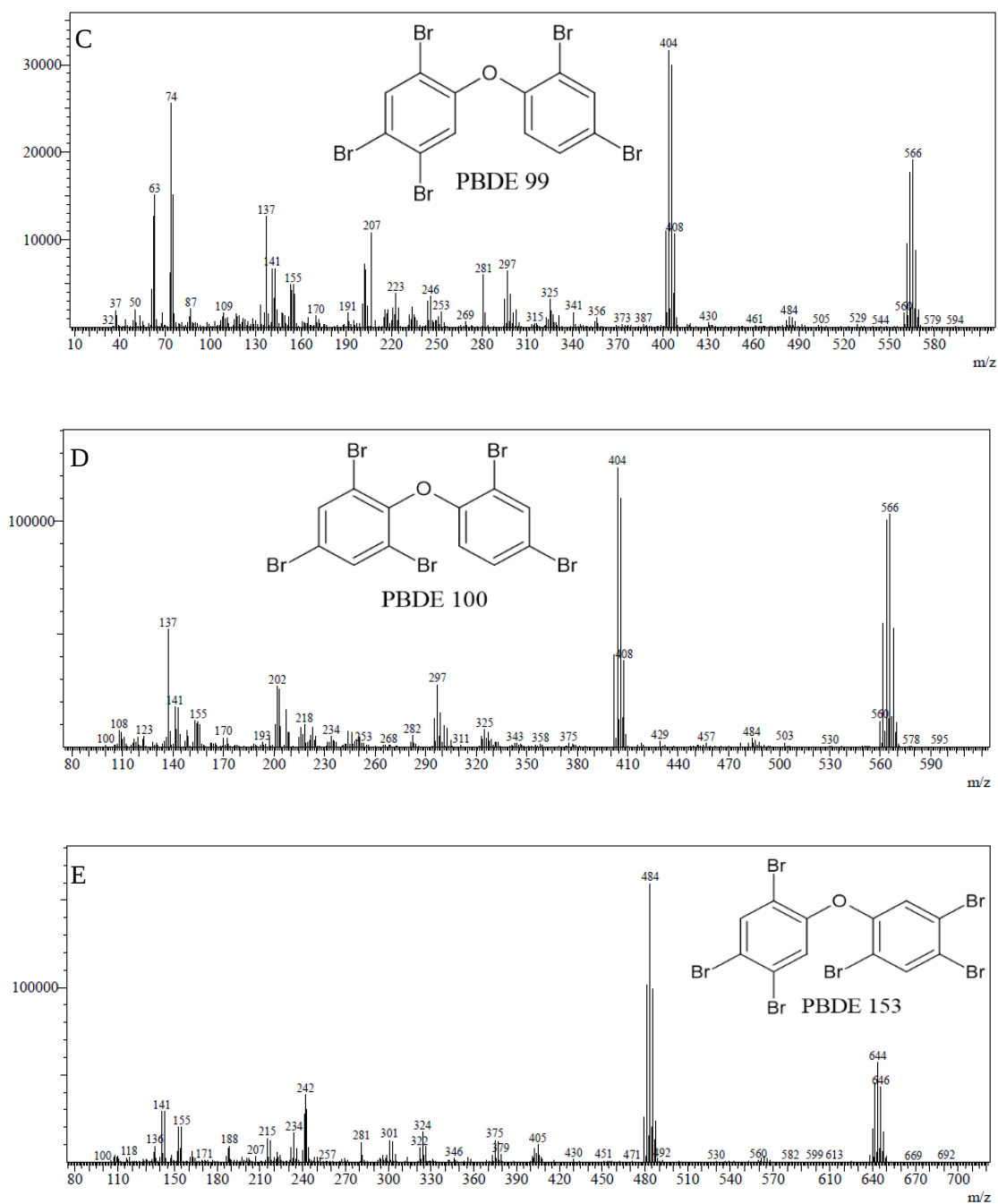
4.2. Desenvolvimento do Método Cromatográfico Py-GC-MS

Para o desenvolvimento do método cromatográfico foi realizado um método exploratório no qual a temperatura da coluna e do injetor foram de 40,0 °C e 300 °C, respectivamente. O modo de injeção *splitless* foi utilizado, tendo tempo de amostragem de 2

min. Foi realizada uma rampa de aquecimento iniciando-se em 40,0 °C, permanecendo por 1 minuto, aquecendo até 320 °C com taxa de aquecimento 30,0 °C min⁻¹ e mantendo nessa temperatura por 5 minutos. O volume de amostragem foi de 5,00 µL introduzidos na porta amostra, que nesse caso é o pirolisador, no qual a condição exploratória foi a temperatura de 250 °C por 0,20 min. O tempo total da análise foi de 17,0 min. Nessa condição cromatográfica foi realizado a varredura dos íons (modo scan) (Figura 14) e comparados com espectros encontrados na literatura. Ao analisar os espectros de massas e as estruturas do PBDE 99 e PBDE 100 foi observado que eles são isômeros de posição. Na Tabela 11 está apresentados os tempos de retenção e os íons fragmentos de cada PBDE selecionados para quantificação e qualificação dos analitos.

Figura 14. Espectro de massas do A) PBDE 28, B) PBDE 47, C) PBDE 99, D) PBDE 100, E) PBDE 153, na concentração de 20 mg L⁻¹ em MeOH.

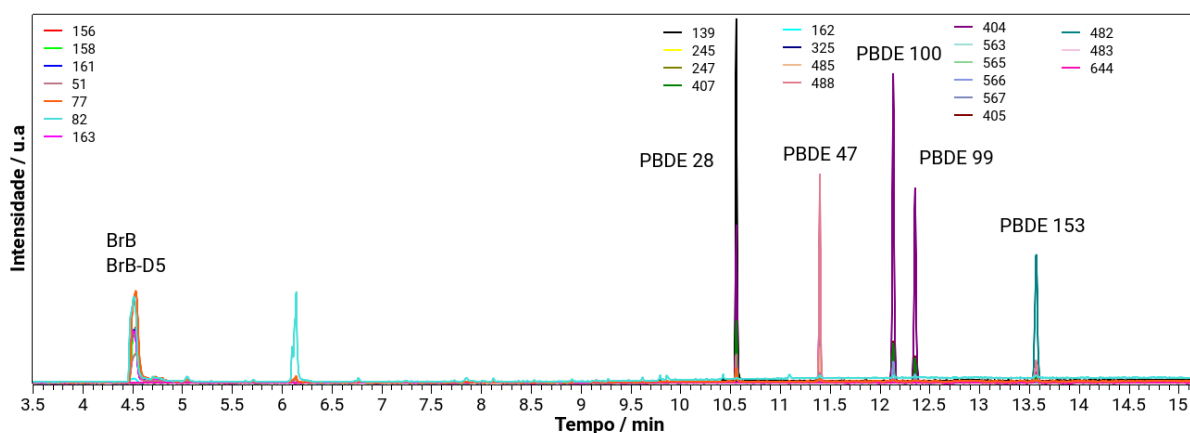




Fonte: Elaborada pela autora (2023).

Após definidos os íons a serem monitorados, foi realizada a análise no modo monitoramento dos íons selecionados (SIM). A Figura 15 apresenta o cromatograma dos íons extraídos (XIC) obtido da mistura de analitos na concentração de 6,00 mg L⁻¹ em MeOH. Essa análise identifica se houve coeluição entre os analitos.

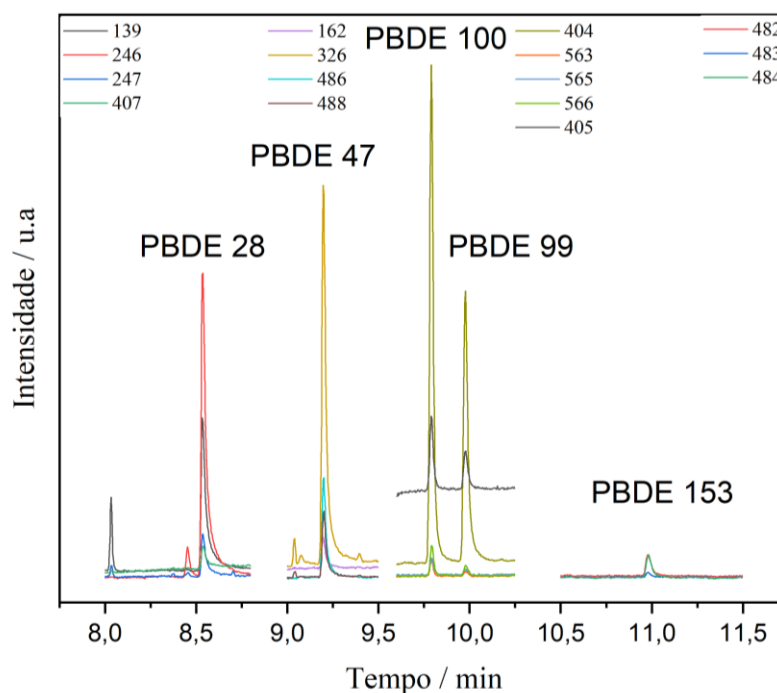
Figura 15. Cromatograma dos íons extraídos (XIC) obtido pela análise de uma mistura de solução padrão de 6,00 mg L⁻¹ do PBDE 28, PBDE 47, PBDE 99, PBDE 100, PBDE 153, BrB e BrB-D5 em MeOH.



Fonte. Elaborado pela autora (2023).

O tempo total de separação cromatográfica foi de 12 min, conforme a Figura 15. As janelas usadas no modo SIM permitiram que o cromatograma apresentasse poucos ruídos, como visto na Figura 16, e apresentado os valores tempo de retenção e os íons selecionados na Tabela 11 os íons demarcados são os íons base que foram utilizados na quantificação.

Figura 16. Cromatograma de íons extraídos (XIC) obtido pela análise de uma mistura de solução padrão de 1 mg L⁻¹ do PBDE 28, PBDE 47, PBDE 99, PBDE 100 e PBDE 153 em MeOH.



Fonte: Elaborado pela autora (2023).

Tabela 11.Tempo de retenção e íons selecionados dos analitos usados no modo SIM.

Analitos	Tempo de Retenção / min	Íons selecionados / m/z
PBDE 28	8,50	139, 246*, 247, 407
PBDE 47	9,20	162, 326*, 485, 488
PBDE 99	9,97	404*, 405, 563, 565
PBDE 100	9,79	404*, 566, 565
PBDE 153	10,98	482, 483, 484*

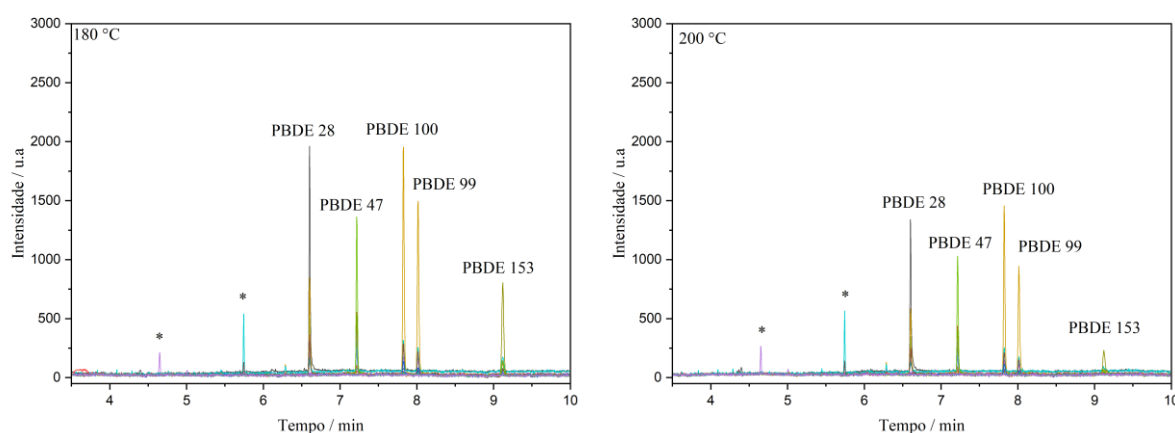
* os íons mais intensos foram utilizados para quantificação.

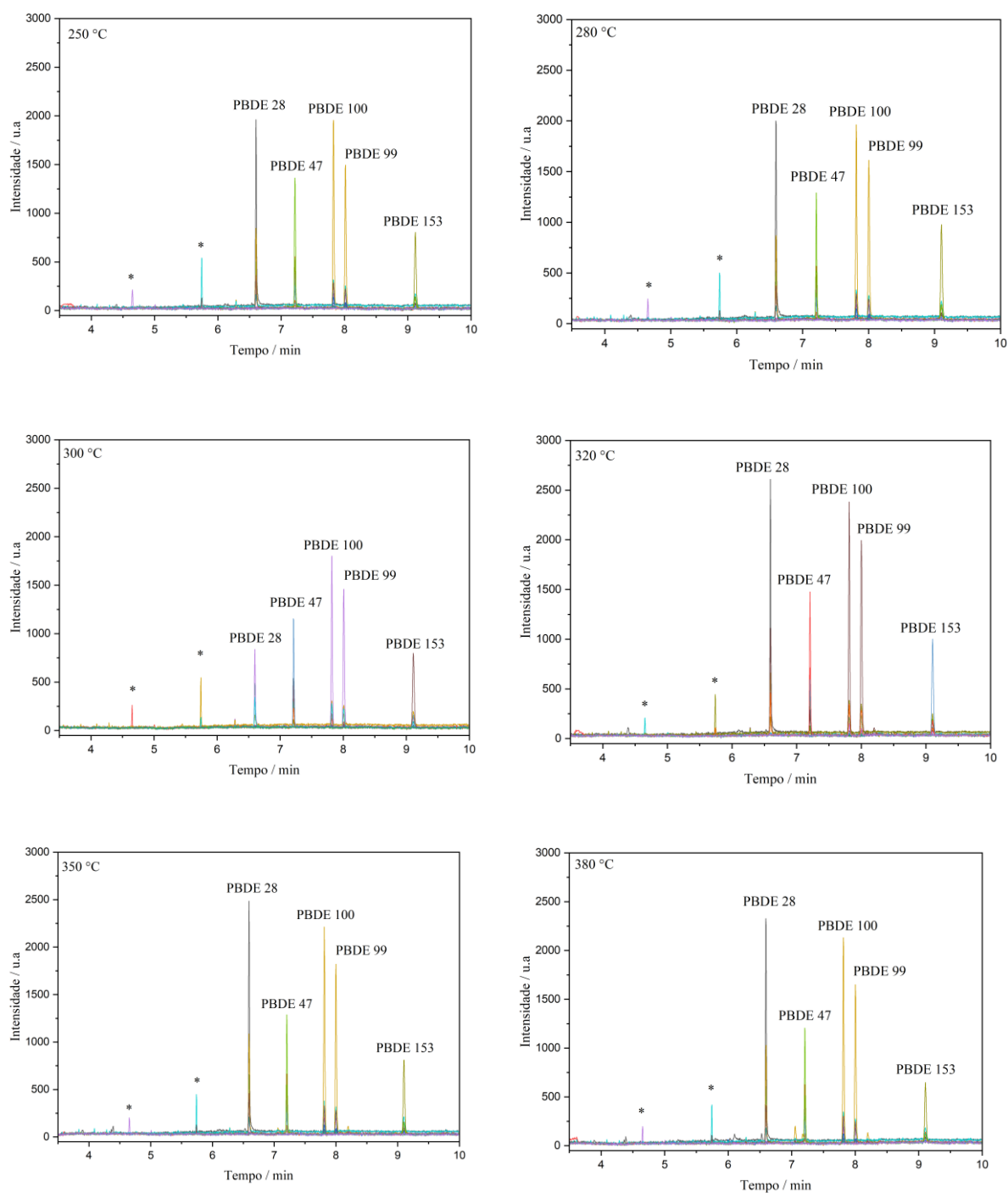
Fonte: Elaborado pela autora (2023).

4.3. Avaliação da temperatura do Pirolisador e os efeitos na separação dos PBDEs

O efeito de diferentes temperaturas na introdução da amostra deve ser estudado ao usar o pirolisador. Foi possível apontar que a temperatura influencia no sinal dos PBDEs, basta observar a Figura 17, as intensidades mudam em função da temperatura utilizada. Uma hipótese seria o início de eventos de degradação dos PBDEs. Após o aquecimento há o surgimento de picos desconhecidos que de acordo com Liang e colaboradores (2020) podem ser identificados como produtos de degradação desses elementos. Estudos demonstram que a degradação com eficiência de 100 % é alcançada com temperaturas de pirolise entre 450 °C e 600 °C, temperatura de 300 °C não acontece a decomposição total, e a temperatura acima de 600 °C pode resultar em uma decomposição ultrarrápida de PBDEs, por esse motivo foram utilizadas temperaturas abaixo dessas citadas [50], [51].

Figura 17. XIC obtido pela análise de uma mistura de solução padrão de 2 mg L⁻¹ do PBDE 28, PBDE 47, PBDE 99, PBDE 100 e PBDE 153 em MeOH para as diferentes temperaturas testadas.





* fragmentos desconhecidos.

Fonte: Elaborado pela autora (2023).

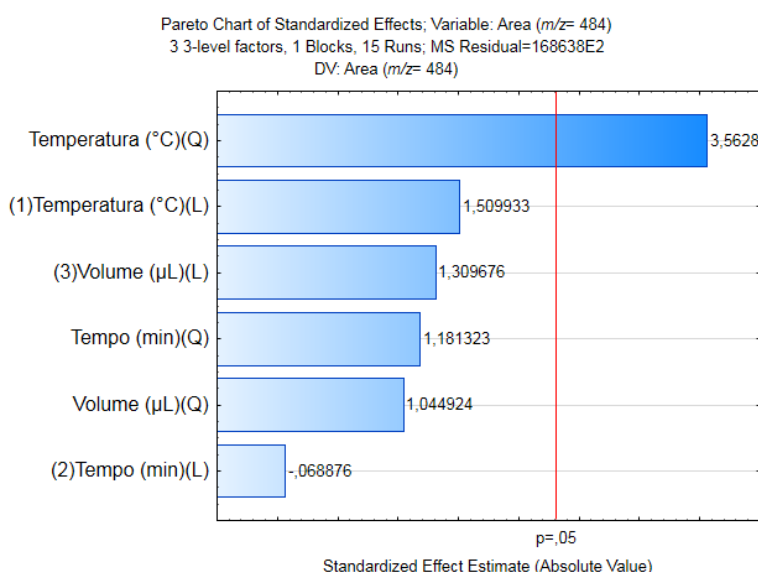
4.4. Planejamento Box-Behnken para otimização da temperatura de introdução da amostra

Para a otimização da injeção foram utilizadas abordagens multivariadas, realizando o planejamento fatorial completo 2^3 , para avaliar os fatores que mais influenciam quantitativamente na introdução da amostra, e consequentemente na resposta analítica, sendo

estudadas as variáveis, temperatura, tempo e o volume de injeção. A resposta avaliada foi a área do íon $m/z = 484$ sendo o íon de quantificação referente ao PBDE 153. Optou-se por monitorar o PBDE 153 por ser o analito que obtém menor intensidade nas análises. O PBDE 153 é o elemento mais retido, tendo maior interação com a coluna, sendo o elemento mais apolar. Além disso, possui a maior massa molecular, sendo o elemento de menor volatilidade quando comparado com os outros PBDEs. Em virtude de sua elevada retenção, sofre mais processos de difusão, e conseqüentemente, alargamento do pico cromatográfico, gerando uma baixa resposta analítica em relação aos demais analitos [50]. Após análises dos resultados observou que a temperatura do pirolisador e volume de amostra influenciam na resposta analítica.

Assim para o refinar o planejamento dos experimentos e obtenção de condições mais precisas da injeção, foi utilizado o planejamento de Box-Behnken com três variáveis. Conforme demonstrado na Figura 18 no gráfico de Pareto observa-se que apenas o quadrado da temperatura é significativo sendo a resposta analítica mais eficiente quando os valores tendem para valores positivos, sendo um efeito de segunda ordem. As variáveis volume de injeção e tempo do pirolisador não apresentaram efeitos primários ou de interação significativos no nível de confiança de 95,0 %. O estudo de Liang e colaboradores (2020), evidenciou que as taxas de decomposição dos PBDEs são maiores com o aumento da temperatura, sendo justificável a temperatura ser a variável que influencia a resposta analítica [50].

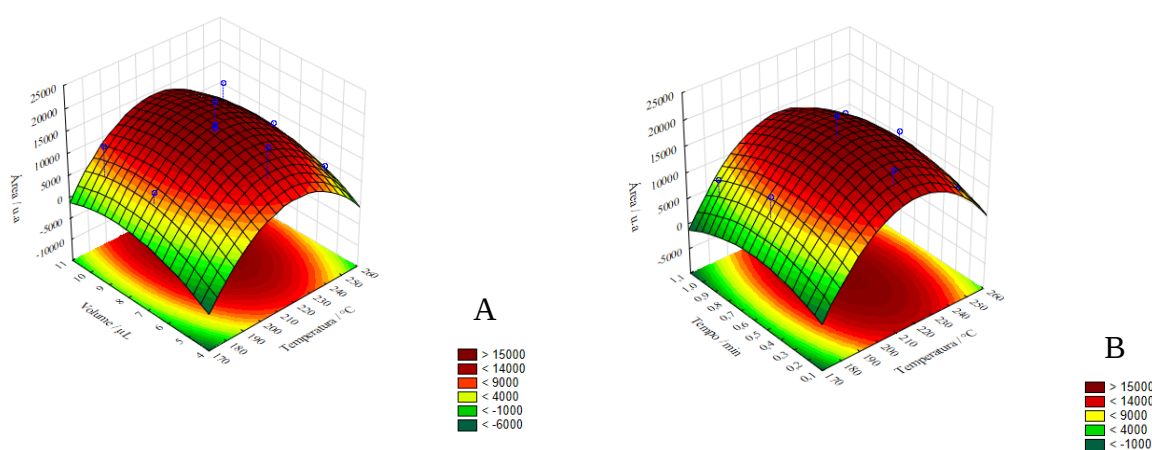
Figura 18. Gráfico de Pareto obtido para a otimização da injeção usando experimento Box-Behnken.



Fonte: Elaborado pela autora (2023).

Após a avaliação dos resultados da superfície de resposta Figura 29 A e B que a região ótima é a de coloração vermelha que está localizada no centro das superfícies. Isto nos mostra que a condição crítica é alcançada quando a temperatura 220 °C, tempo de pirólise de 0,6 min e volume de injeção de 9 μ L, sendo assim a condição ótima selecionada.

Figura 19. Superfícies de respostas adquirida após a otimização da injeção do pirolisador usando delineamento Box-Behnken.



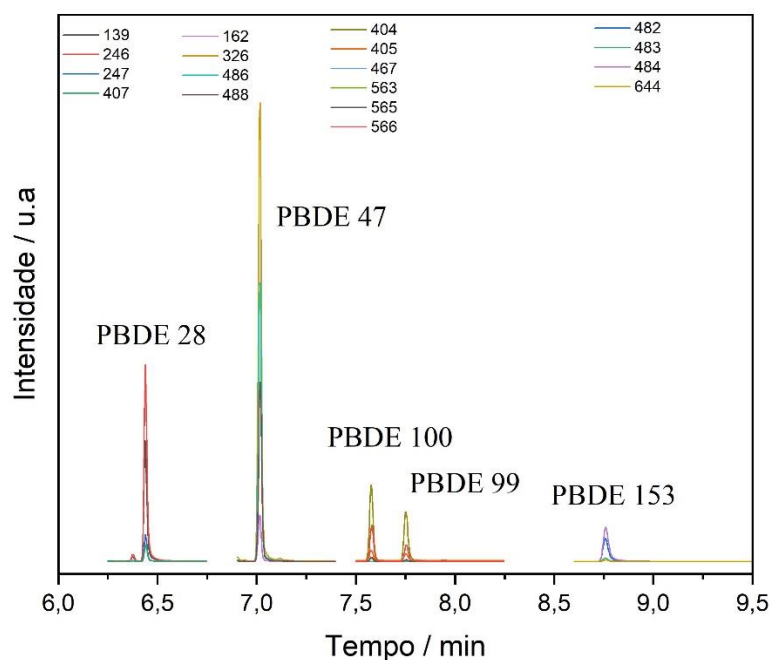
Fonte: Elaborado pela autora (2023).

Na Figura 20 é possível observar o cromatograma dos íons extraídos (SIM) contendo 10 mg L^{-1} dos PBDEs após a otimização Box-Behnken. Foi calculada a resolução (R_s) entre os isômeros PBDE 99 e PBDE 100. São considerados picos cromatográficos com boa resolução quando o $R_s > 1$ e para fins quantitativos a R_s tem que ser maior que 1,5 esse valor indica uma separação completa dos analitos. Nesse caso foi obtido o valor de $R_s = 3,90$, esse valor significa que há uma separação completa dos isômeros com boa resolução indicando que não houve a sobreposição de picos.

A assimetria dos picos foi calculada para os analitos e seus valores consta na Tabela 12. A assimetria dos picos cromatográficos estão na faixa de 0,95 e 1,8. A especificação indica que o fator de assimetria seja $\leq 1,6$, o PBDE 153 obteve o valor de assimetria acima da especificação, esse fato se deve por ele possuir uma massa molecular elevada quando comparador aos outros analitos [52]. O PBDE 47 obteve o valor para o fator de alargamento (TF) de 1 sendo considerado como perfeitamente simétrico, para os demais PBDEs foram observados valores acima de 1, demonstrando assim uma assimetria no pico. Quando o valor de TF aumenta a

assimetria do pico cromatográfica é mais proeminente e é observado o início de caldas nos picos cromatográficos [53].

Figura 20. Cromatograma de íons extraído (XIC) obtido pela análise de uma mistura de solução padrão de 10 mg L⁻¹ PBDE 28, PBDE 47, PBDE 99, PBDE 100, PBDE 153, BrB e BrB-D5 em hexano na condição de injeção otimizada.



Fonte: Elaborado pela autora (2023).

Tabela 12. Resultados dos cálculos de assimetria (A_s) e o fator de alargamentos (TF) para os analitos estudados.

Analitos	Assimetria (A_s)	Fator de alargamento (TF)
PBDE 28	1,30	1,30
PBDE 47	0,95	1,00
PBDE 99	1,20	1,20
PBDE 100	1,40	1,10
PBDE 153	1,80	1,60

Fonte: Elaborado pela autora (2023).

4.5. Estudo de Solubilidade do MIL

A solubilidade do MIL foi investigada por meio de um estudo univariado no qual modificou-se apenas a quantidade de solvente dispersor, sendo utilizado a ACN. Esse estudo

permitiu determinar os valores que foram utilizados como máximo e mínimo na otimização da DLLME.

Na Figura 21 podemos observar que quando se adiciona o volume de 65 μL de ACN (experimento 4) a solução começa a ficar turva, e quando se atinge o valor de 105 μL (experimento 6) é perceptível que a solução obtém o ponto no qual a solução fica completamente turva com uma coloração branca. Dessa forma, não é possível separar o MIL da amostra. Esse ponto persiste ao adicionarmos volumes maiores de solventes. Ao atingir o volume de 325 μL de ACN (experimento 17) pode-se observar a diluição completa do MIL, no qual a solução fica incolor. Neste experimento, tornou-se evidente que, para um volume de amostra de 2,00 mL, o volume do solvente dispersor não deve exceder 65,0 μL . Considerando que a amostra já foi fortificada com 100 μL de metanol (MeOH), o valor total de solventes orgânicos que podem estar presentes na amostra é, portanto, de 165 μL .

Figura 21. Estudo da adição do MIL de massa fixa com volumes diferentes de solvente dispersor (ACN).



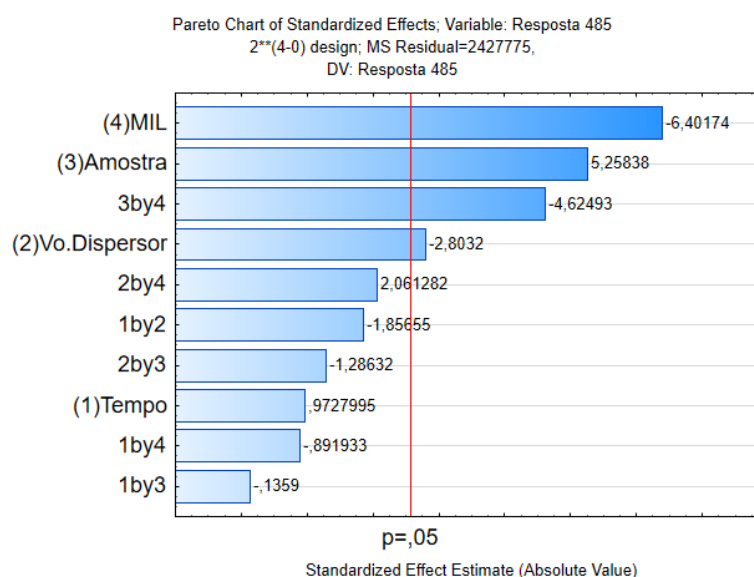
Fonte: Elaborado pela autora (2023).

4.6. Otimização da DLLME/MIL usando planejamento composto central

Para a triagem das variáveis mais relevantes na DLLME/MIL foi utilizado água Milli-Q como amostra e um planejamento fatorial completo 2^4 . A resposta a ser estudada é referente ao íon de quantificação do íon com $m/z = 484$ referente ao PBDE 153 que é o analito de menor intensidade quando comparado aos demais. Ao avaliar o gráfico de Pareto na Figura 22 pode-se observar que a resposta analítica favorável foi obtida para 3 variáveis significativas sendo a massa do MIL (solvente extrator), volume de dispersor (ACN) tendendo a valores positivos. Isso significa que quanto maior a massa do MIL e volume do solvente dispersor maior será a resposta obtida. O volume de amostra tende a valores negativos, sendo assim menores volumes

de amostra melhor será a extração. Podemos observar que o tempo de extração não influenciam na DLLME/MIL, optando por utilizar o menor valor avaliado, sendo de 60 segundos. De acordo com, Rezaee e colaboradores 2010, a microextração DLLME é baseada no sistema ternário de solventes, no qual o equilíbrio é rapidamente alcançado após a adição do solvente dispersor em conjunto com o solvente extrator, gerando microgotas extraíndo os analitos. O que explica a rápida transferência dos analitos da amostra para a fase extratora, sendo independente do tempo de contato com a amostra [54].

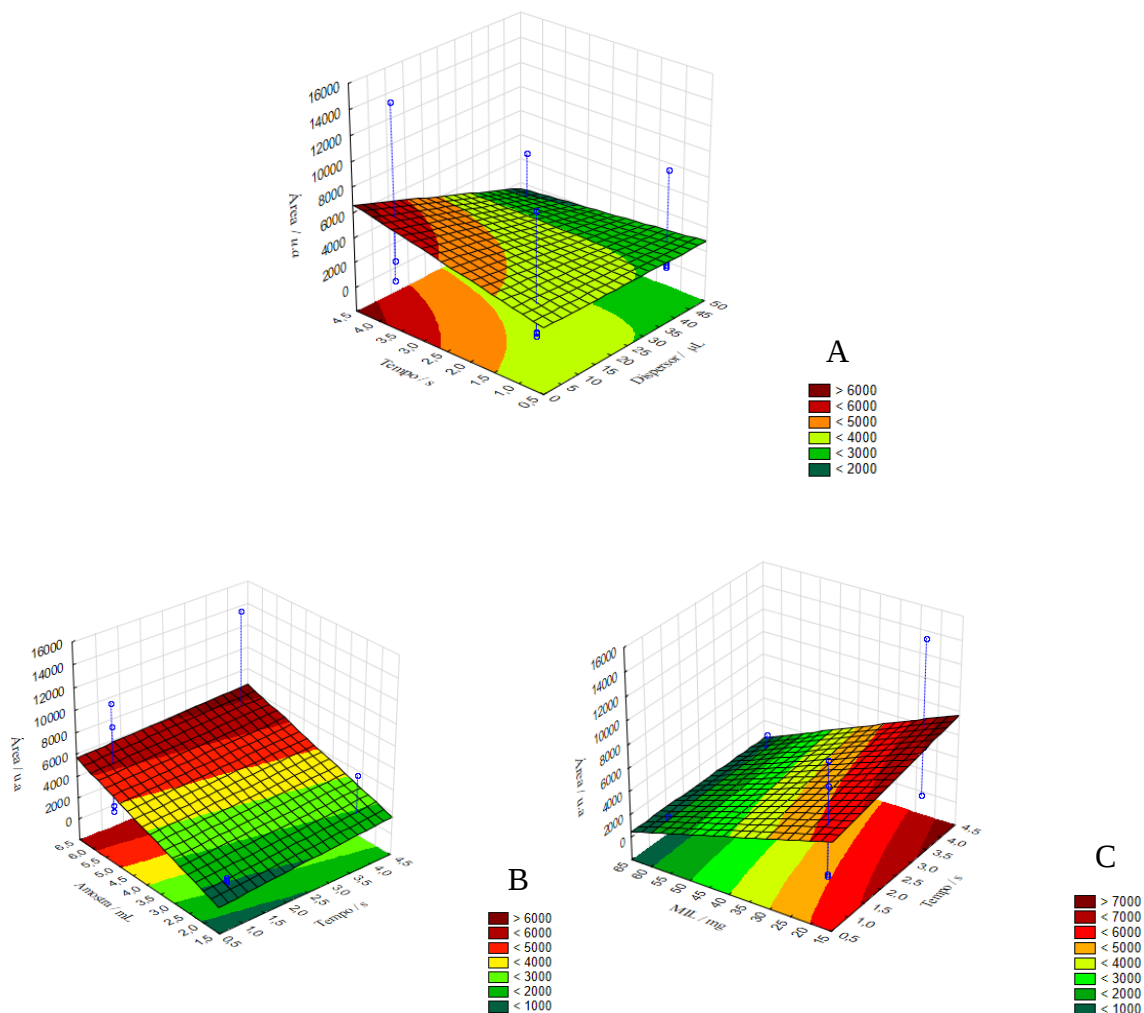
Figura 22. Gráfico de Pareto do planejamento 2^4 para a condição da DLLME utilizando o MIL como solvente extrator e água como amostra.



Fonte: Elaborado pela autora (2023).

Avaliando os gráficos de superfície de respostas em comparação com o tempo de extração que não influencia na DLLME/MIL pode-se perceber ao analisar a Figura 23 A (superfície de resposta) quanto maior o tempo, menor é o volume de dispersor necessário na região de coloração vermelha. Na Figura 23 B seguindo o mesmo raciocínio quanto menor o tempo maior o volume de amostra. E na Figura 23 C quanto menor o tempo, menor a massa de MIL a ser utilizada. Assim é possível obter os valores críticos das condições ótimas das variáveis estudadas sendo eles: 20 mg de MIL, 5 μ L de acetonitrila (ACN) como solvente dispersor, tempo de extração de 60 s e volume de amostra de 6 mL. As condições otimizadas para Py e DLLME permitiram separação adequada de PBDEs em amostras de lodo, sem a necessidade de etapa de centrifugação.

Figura 23. A) Superfície de resposta obtidas comparando solvente dispersor x tempo, B) Superfície de resposta obtidas comparando tempo x amostra e C) Superfície de resposta obtidas comparando tempo x massa de MIL no planejamento 2^4 para a condição da DLLME utilizando o MIL como solvente extrator e água como amostra.



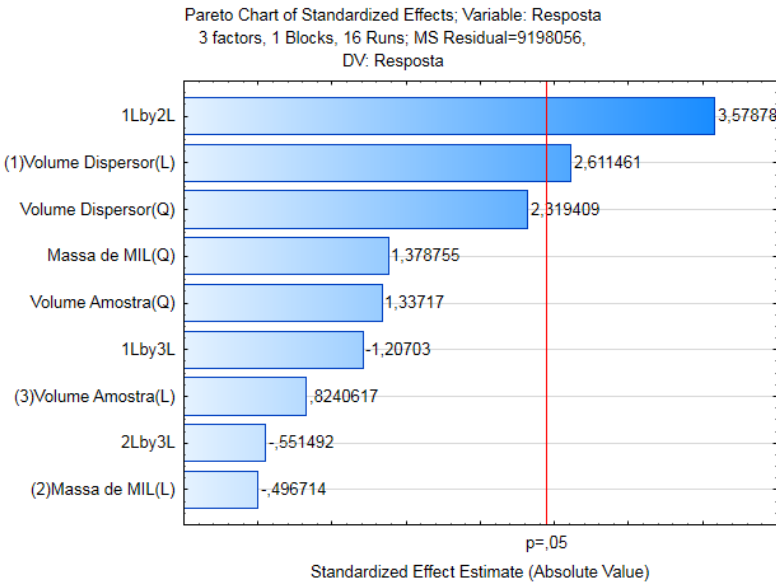
Fonte: Elaborado pela autora (2023).

As variáveis referentes à massa do MIL, o volume de dispersor (ACN) e o volume de amostra apresentaram influência nas respostas cromatográficas. Uma otimização mais detalhada foi realizada para avaliar esses parâmetros. Foi utilizado o planejamento composto central. O tempo de extração não é uma variável significativa, logo foi fixado em 60 s sendo o valor mínimo avaliado. A fim de se obter uma condição exata para todos os PBDEs foram utilizadas como resposta a média das áreas dos íons de quantificação de todos PBDEs analisados.

Com o modelo quadrático obteve-se R^2 de 0,81 sendo uma resposta aceitável. Com o gráfico de Pareto pode observar que a variável que influencia na resposta analítica é o volume de solvente dispersor tendendo a valores positivos e sua interação com a massa do MIL (Figura 24). Essa variável pode ser explicada conforme foi discutido no índice 4.5, conforme se aumenta o volume do solvente dispersor, necessita aumentar a massa do MIL para não acontecer a sua solubilização completa. O volume de solvente dispersor e de extrator estão intrinsicamente ligados, a formação adequada das microgotas é dependente dessa relação entre solvente dispersor e extrator, o que pode afetar diretamente a eficiência da extração [27]. É possível observar na Figura 25 A, que quanto menor for o volume de dispersor, maior será o volume de amostra. A Figura 25 B é perceptível que os extremos do gráfico apresentam a maior influência na resposta analítica. Neste caso os valores críticos são o volume de amostra sendo 8,50 mL, o volume do solvente dispersor (ACN) sendo 3,00 μ L e a massa do MIL de 10,0 mg.

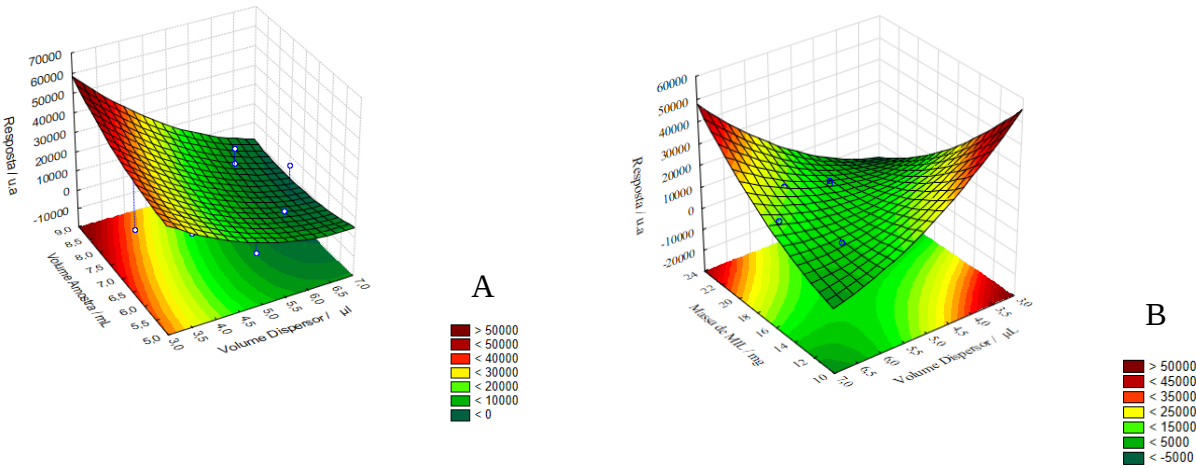
A figura 26 exibe o cromatograma de íons extraídos da condição otimizada da DLLME/MIL é evidente que o MIL foi capaz de extrair todos os Éteres Difenil-polibromados (PBDEs), com destaque para a baixa intensidade observada para o PBDE 153. A capacidade do MIL em extrair eficientemente os PBDEs, conforme refletido no cromatograma, sugere a eficácia da metodologia otimizada. A baixa intensidade registrada para o PBDE 153 pode ser atribuída a diversas razões, como características estruturais específicas desse composto ou interações diferenciadas com o MIL durante o processo de extração. Essa observação fortalece a robustez do método desenvolvido, demonstrando sua capacidade de lidar efetivamente com uma variedade de PBDEs, apesar dos potenciais variações na intensidade de sinais de compostos individuais. A interpretação cuidadosa desses cromatogramas contribui para a compreensão detalhada do desempenho analítico da DLLME/MIL na análise de PBDEs.

Figura 24. Gráfico de Pareto obtido no planejamento CCD para obter a melhor condição da DLLME utilizando o MIL como solvente extrator e água como amostra.



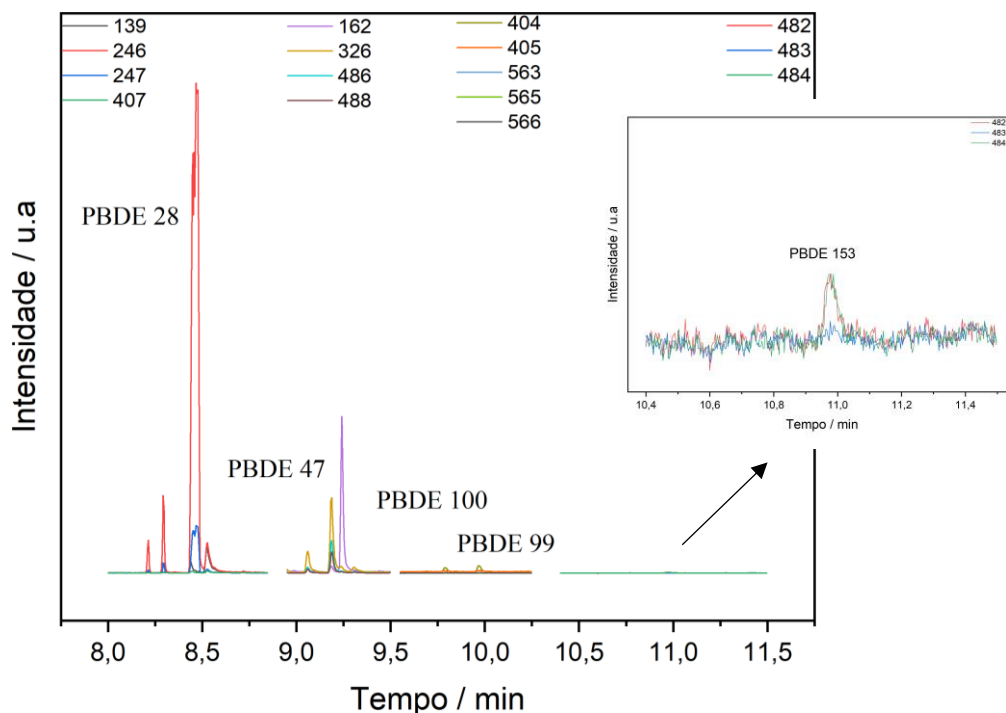
Fonte: Elaborado pela autora (2023).

Figura 25. A) Superfície de resposta obtidas comparando volume de amostra utilizada com volume de solvente dispersor e B) Superfície de resposta obtidas comparando massa utilizada de MIL com volume de solvente dispersor, obtidas no planejamento CCD para obter a melhor condição da DLLME utilizando o MIL como solvente extrator e água como amostra.



Fonte: Elaborado pela autora (2023).

Figura 26. Cromatograma de íons extraído (XIC) do PBDE 28, PBDE 47, PBDE 99, PBDE 100 e PBDE 153 após a DLLME/MIL otimizada.



Fonte: Elaborado pela autora (2023).

O efeito salting-out não foi avaliado pois o MIL possui alta viscosidade e à medida que a força iônica de uma solução é aumentada, a viscosidade da solução também pode aumentar, o que muitas vezes dificulta o processo de extração. Com o aumento da viscosidade da solução restringe o transporte do analito para o solvente extrator [55]. A condição ótima foi aplicada nas amostras de lodo da estação de tratamento de esgoto.

4.7. Caracterização Físico-Química da Amostra

Foram realizadas coletas de lodo em pontos e datas diferentes proveniente de três pontos de uma indústria produtora de materiais de escritório, coletados em diferentes datas 23/03, 18/07 e 29/06. Como a amostra não era homogênea, as amostras foram misturadas, formando assim, um pool de amostra que foram, em seguida, caracterizadas, os dados estão apresentados na Tabela 13.

Tabela 13. Parâmetros físico-químicos do pool de amostra.

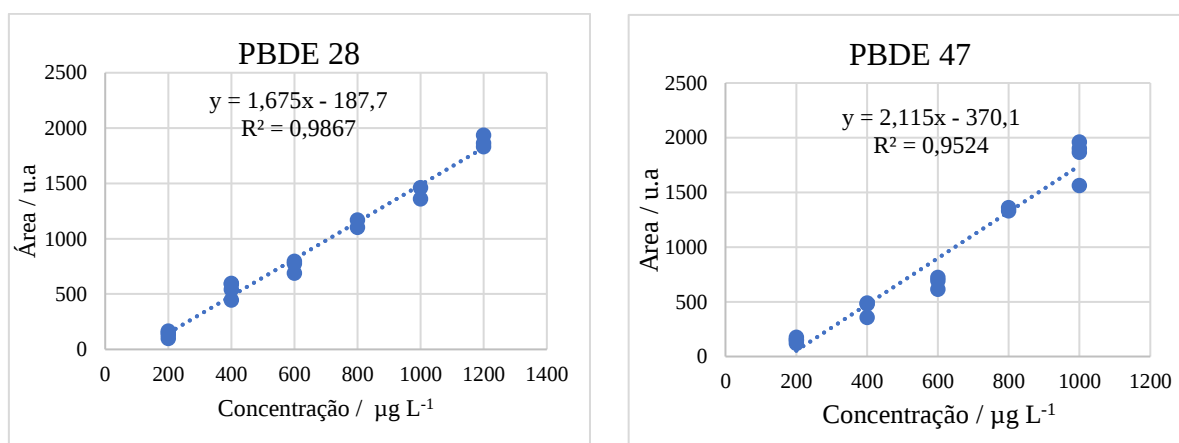
Parâmetros	
pH	7,40
Carbono Orgânico Total / mg L ⁻¹	31,0
Demanda Química de Oxigênio / mg O ₂ L ⁻¹	123
Condutividade / mS cm ⁻¹	765
Turbidez / NTU	26,0

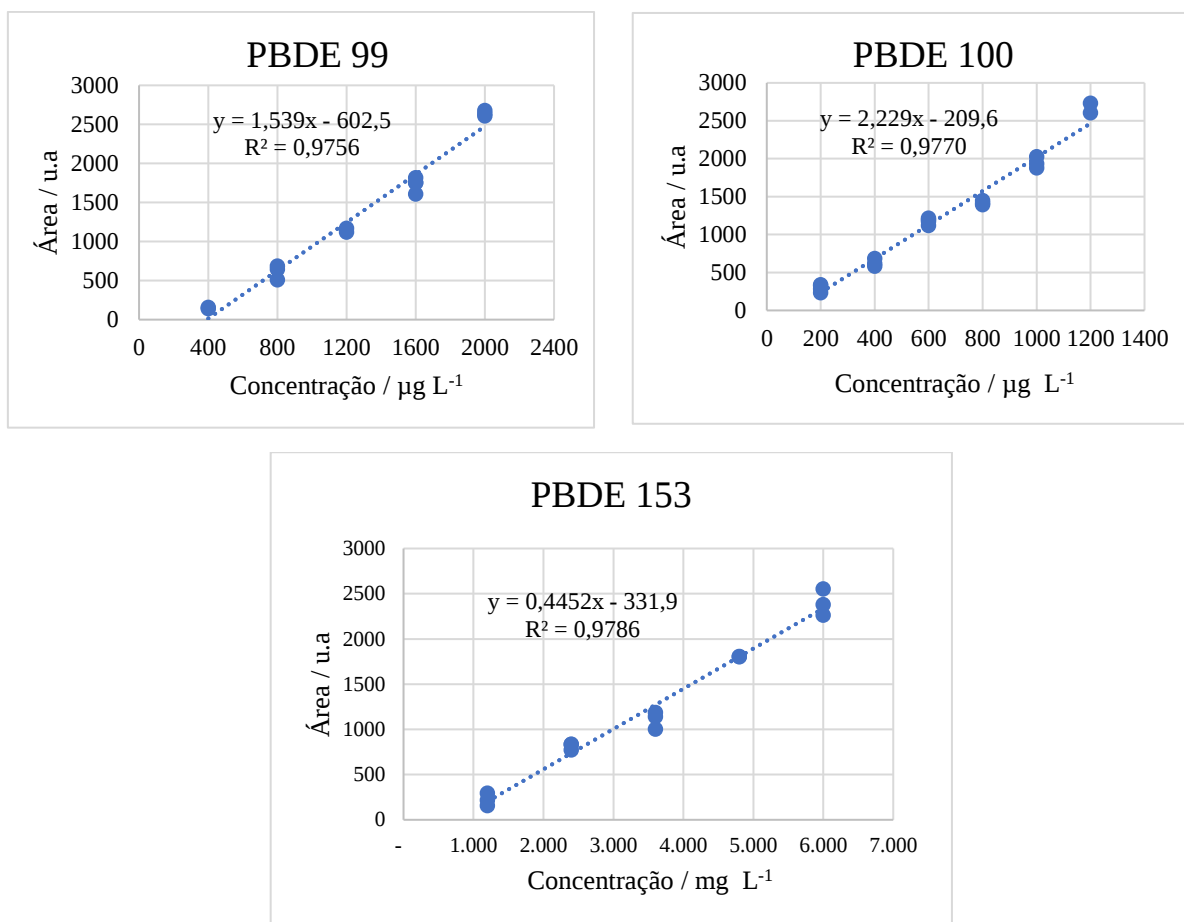
Fonte: Elaborado pela autora (2023).

4.8. Parâmetros de qualidade do método

Para a avaliação dos parâmetros de qualidade do método foram utilizados os critérios aceitos pelas instituições EPA, INMETRO e ANVISA. O protocolo foi adaptado visando a necessidade e inexistências de guias específicos para análises de PBDEs em amostras de lodo. Foi realizada curva analítica em hexano do PBDE 28, PBDE 47, PBDE 99, PBDE 100 e PBDE 153. Essa curva foi obtida construindo o gráfico da área do PBDE versus a concentração do padrão do analito. Foram avaliados o intervalo de concentração entre 200,0 µg L⁻¹ a 1200 µg L⁻¹ para os PBDE 28 e PBDE 100. Para o PBDE 47, PBDE 99 e PBDE 153 o intervalo de concentração foi de 200 µg L⁻¹ a 1000 µg L⁻¹; 400,0 µg L⁻¹ a 2400 µg L⁻¹ e 1200 µg L⁻¹ a 6000 µg L⁻¹ respectivamente, conforme é mostrado na Figura 27. Os resultados da curva da analítica do PBDE 28, PBDE 47, PBDE 99, PBDE 100 e PBDE 153 foram avaliados usando a ANOVA e não apresentaram falta de ajuste, os dados apresentaram homoscedasticidade, não necessitando do uso de calibração ponderação. O limite de detecção (LOD) e o limite de quantificação (LOQ) estão apresentados na Tabela 14.

Figura 27. Curva analítica obtidas para o PBDE 28, PBDE 47, PBDE 99, PBDE 100 e PBDE 153 em hexano.





Fonte: Elaborado pela autora (2023).

Tabela 14. Parâmetros de precisão (RSD %), LOD e LOQ para o PBDE 28, PBDE 47, PBDE 99, PBDE 100 e PBDE 153 obtidos para as diferentes concentrações da curva de calibração em hexano (n=3).

(continua)

Analitos	Concentração / µg L ⁻¹	Precisão / %	LOD / µg L ⁻¹	LOQ / µg L ⁻¹
PBDE 28	200	9,80	44,4	200
	400	4,15		
	600	6,00		
	800	3,00		
	1000	3,50		
	1200	2,35		
PBDE 47	200	7,85	16,9	200
	400	12,5		
	600	6,60		
	800	1,10		
	1000	2,00		
PBDE 99	400	5,80	16,9	400
	800	9,00		
	1200	2,30		
	1600	4,40		
	2000	1,10		

Tabela 14. Parâmetros de precisão (RSD %), LOD e LOQ para o PBDE 28, PBDE 47, PBDE 99, PBDE 100 e PBDE 153 obtidos para as diferentes concentrações da curva de calibração em hexano (n=3).

(conclusão)

Analitos	Concentração / $\mu\text{g L}^{-1}$	Precisão / %	LOD / $\mu\text{g L}^{-1}$	LOQ / $\mu\text{g L}^{-1}$
PBDE 100	200	7,55	33,0	200
	400	7,00		
	600	3,05		
	800	1,60		
	1000	3,20		
	1200	2,40		
PBDE 153	1200	25,4	375	1200
	2400	3,50		
	3600	6,90		
	4800	0,11		
	6000	5,00		

Fonte: Elaborado pela autora (2023).

O método proposto apresentou baixos valores LOQ e LOD, não há relato na literatura de análises do PBDE 28, PBDE 47, PBDE 99, PBDE 100 e PBDE 153 utilizando o pirolisador na etapa de introdução da amostra. YUZAWA e colaboradores (2008) analisou uma amostra certificada do éter decabromodifenílico (DeBDE ou PBDE 209) e a curva de analítica foi na faixa de 200 a 1000 mg L^{-1} com desvio padrão relativo de 7,00 % [56].

Vale ressaltar que a maior parte dos métodos encontrados na literatura utilizam amostras sólidas em suas análises como casca de pinhão, madeira [57], biocarvão no solo [58] e análises de polímeros. A pirólise vem sendo bastante explorado em análises de microplásticos em águas residuárias, lagos, oceanos, solos e organismos vivos. Mizuguchi e colaboradores (2023), analisou filtro de quartzo contendo microplásticos transportados pelo ar e obteve valores de LOD em concentrações de ng m^{-3} [59].

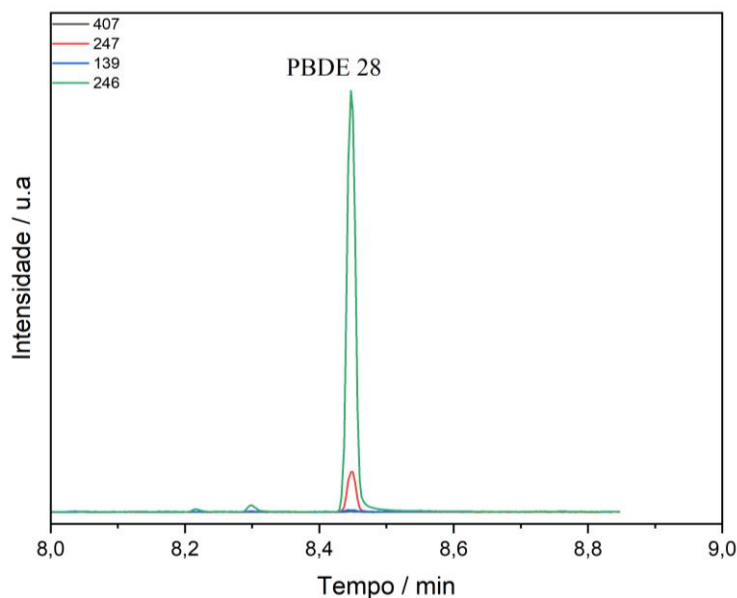
Até o momento não há na literatura a descrição de análises dos PBDEs com Py-GC-MS, refletindo uma lacuna de informações nesse domínio específico. A Py-GC-MS é uma abordagem analítica que envolve a decomposição térmica da amostra antes da análise cromatográfica, possibilitando a identificação e quantificação de compostos voláteis e termicamente estáveis. Dada a natureza específica dos PBDEs e suas propriedades termoquímicas, a aplicação da Py-GC-MS pode apresentar vantagens significativas. No entanto, a escassez de informações na literatura sugere que essa técnica ainda não foi amplamente explorada para análises específicas de PBDEs.

Essa carência de dados pode ser atribuída a diversos fatores, incluindo desafios analíticos, complexidade das matrizes de amostra, e a evolução constante das técnicas analíticas ao longo do tempo. Como resultado, há uma oportunidade para pesquisas adicionais nesse campo, com o intuito de desenvolver e otimizar metodologias que empregam o Py-GC-MS para análises mais abrangentes e sensíveis de PBDEs. É possível que avanços futuros na literatura científica venham a abordar essa lacuna, oferecendo novas perspectivas e técnicas analíticas para a investigação de PBDEs utilizando Py-GC-MS.

4.8.1. Curva de adição padrão na amostra de lodo utilizando DLLME/MIL

Ao analisar a amostra de lodo no Py-GC-MS, identificou a presença do PBDE 28, quando aplicado o método de DLLME/MIL no lodo conforme mostrado na Figura 28. Quando realizado os critérios de confirmação da identidade de um composto foi possível verificar que o tempo de retenção do PBDE 28 é o mesmo do elemento encontrado na amostra. A relação entre o íon de quantificação e os demais íons obteve-se valores de 9,80 para o $m/z= 247$ e 0,04 para o $m/z= 407$ no padrão do PBDE-28, já para o elemento a relação foi de 10,7 para o $m/z= 247$ e 6,00 para o $m/z= 407$ na amostra sendo a variação entre eles de 0,90 % e 6,00 % não ultrapassando o valor recomendado de 10 %. Ao realizar adição de padrão do PBDE 28 na amostra, pode observar um aumento no pico cromatográfico, assim foi confirmado que o PBDE 28 foi encontrado na amostra de lodo.

Figura 28. Cromatograma dos íons extraídos (XIC) do lodo após aplicação da DLLME/MIL sem adição de padrão.

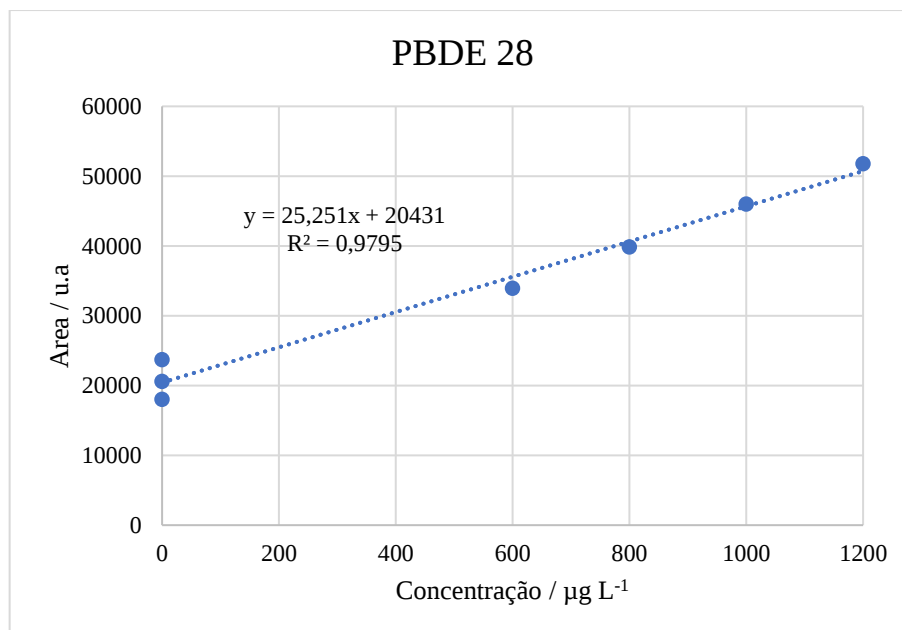


Fonte: Elaborado pela autora (2023).

Foi realizado a determinação do PBDE 28 por adição de padrão na amostra de lodo (Figura 29), foi construído o gráfico da área do PBDE 28 versus a concentração do padrão do analito que foi adicionado antes da DLLME/MIL. Foram avaliados o intervalo de concentração entre $600 \mu\text{g L}^{-1}$ a $1200 \mu\text{g L}^{-1}$. Para encontrar o valor da concentração do PBDE 28 presente na amostra, foi realizado a extrapolação da reta, sendo a divisão do módulo do valor do intercepto da curva pela sua inclinação, obteve-se o valor de $800 \mu\text{g L}^{-1}$ de PBDE 28 no lodo.

A expectativa pela detecção do PBDE 28 na amostra já era antecipada, considerando a natureza das amostras analisadas e a presença habitual de retardantes de chama. Tal previsão baseia-se no uso recorrente desses compostos em materiais comumente encontrados em materiais de uso em escritório, como tintas e plásticos. A justificativa para essa expectativa reside na ampla aplicação desses materiais na fabricação de mobiliário e equipamentos de escritório, fomentando a probabilidade da presença de PBDE 28 na matriz analisada.

Figura 29. Curva de adição de padrão do PBDE 28 feita na amostra de lodo usando o método proposto.



Fonte: Elaborado pela autora (2023).

Estudos demonstram que o PBDE 28 foi determinado em amostras de poeira depositada ao ar livre e folhas de pinheiro coletadas na região da China continental, na concentração média de 5,27 e 14,4 de ng g⁻¹ de peso seco, para a poeira e folhas de pinheiro respectivamente [60]. Enquanto isso, o PBDE 28 foi monitorado na água e sedimento do rio Yangtzé localizado em Wuhan na China durante três períodos do ano, na estação da seca, estação normal e estação chuvosa, sendo frequentemente detectado nas três estações na concentração 0,43 ng L⁻¹, 1,76 ng L⁻¹ e 1,46 ng L⁻¹ na água, e no sedimento foram de 0,35 ng L⁻¹, 0,6 ng L⁻¹ e 0,37 ng L⁻¹ nas estações normal, seca e chuvosa respectivamente [61].

A Tabela 15 apresenta estudos prévios que abordaram a presença de PBDEs em amostras de lodo de esgoto e sedimento. Entre os PBDEs monitorados, destaca-se o PBDE 28, indicado visualmente com coloração vermelha. Nos referidos estudos, a abordagem convencional de preparo de amostras, como a extração Soxhlet, foi empregada, sendo reconhecida por sua abordagem clássica, embora envolva o uso de solventes potencialmente tóxicos, e demande extenso tempo de extração, em comparação com o método proposto nesta dissertação.

Uma análise comparativa com métodos previamente documentados na literatura revela uma notável redução no tempo total de extração no presente trabalho, fixado em 10 minutos.

Em contrapartida, os métodos convencionais demandam períodos que variam de 16 a 48 horas, evidenciando uma redução substancial no tempo de preparo de amostras. Além disso, destaca-se a significativa diminuição no volume de solvente orgânico empregado, estabelecido em 3,00 μL . Ao passo que abordagens tradicionais frequentemente consomem litros de solventes, uma vez que realizam extrações repetidas para assegurar a eficiência do processo. Essas melhorias notáveis sugerem uma abordagem mais eficiente, econômica e sustentável no contexto da extração de PBDEs em amostras de lodo de esgoto.

Em comparação com as concentrações previamente documentadas de PBDE 28 em amostras sólidas de lodo de esgoto e sedimentos, os valores obtidos no presente estudo se mostraram inferiores aos referidos na literatura. Contudo, ao contrastar essas concentrações com aquelas presentes na fração líquida do lodo de esgoto, observou-se que o valor obtido de 800 $\mu\text{g L}^{-1}$ era superior aos relatados em estudos anteriores, especialmente considerando que a amostra foi coletada diretamente da estação de tratamento de uma indústria local que utiliza PBDEs. Essa observação sugere que a atividade industrial pode ser uma fonte significativa de PBDEs na água residual, resultando em concentrações elevadas na fração líquida do lodo de esgoto.

Tabela 15. Concentração de PBDEs encontrados em amostras de lodo de esgoto e sedimentos e comparação do método de DLLME/MIL proposto com outros presentes na literatura

(Continua)

Analitos	Concentração na amostra	Amostra	Quantidade de Amostra	Técnica de extração	Solvente utilizado	Tempo de extração	Técnica de análise	Ref.
PBDE-17	1,1 ng g ⁻¹	Lodo de esgoto	5 g	Soxhlet	Diclorometano	16 horas	GC-NCI-MS	[62] (2012)
PBDE-28	1,3 (13 000 µg L ⁻¹)							
PBDE-71	1,4 ng g ⁻¹							
PBDE-47	6,8 ng g ⁻¹							
PBDE-66	1,2 ng g ⁻¹							
PBDE-100	2,5 ng g ⁻¹							
PBDE-99	15,8 ng g ⁻¹							
PBDE-85	1,9 ng g ⁻¹							
PBDE-154	3,9 ng g ⁻¹							
PBDE-153	4,4 ng g ⁻¹							
PBDE-138	2,9 ng g ⁻¹							
PBDE-183	3,3 ng g ⁻¹							
PBDE-209	1774 ng g ⁻¹							
PBDE 28	1,05 ng g ⁻¹ ou (10 500 µg L ⁻¹)	Lodo de esgoto	20 g	Extrator de solvente acelerado (ASE 300, Dionex Corp)	Hexano/Acetona	-	GC-MS/MS	[63] (2015)
PBDE 47	6,32 ng g ⁻¹							
PBDE 99	4,28 ng g ⁻¹							
PBDE 100	0,94 ng g ⁻¹							
PBDE 153	1,82 ng g ⁻¹							
PBDE 154	0,67 ng g ⁻¹							
PBDE 183	0,74 ng g ⁻¹							
PBDE 209	94,2 ng g ⁻¹							

*ng g⁻¹ de peso seco

Tabela 15. Concentração de PBDEs encontrados em amostras de lodo de esgoto e sedimentos e comparação do método de DLLME/MIL proposto com outros presentes na literatura

(Continuação)

Analitos	Concentração na amostra	Amostra	Quantidade de Amostra	Técnica de extração	Solvente utilizado	Tempo de extração	Técnica de análise	Ref.
PBDE 28	-	Lodo de esgoto	-	Soxhlet	Diclorometano	-	GC/MS–NCI	[64] (2015)
PBDE 47	135,4 ng g ⁻¹							
PBDE 99	132,9 ng g ⁻¹							
PBDE 100	36,25 ng g ⁻¹							
PBDE 153	18,1 ng g ⁻¹							
PBDE 154	17,5 ng g ⁻¹							
PBDE 183	25,7 ng g ⁻¹							
PBDE 209	1043,95 ng g ⁻¹							
PBDE 28	8,55 ng g ⁻¹ ou (855 000 µg L ⁻¹)	Sedimento	10 g	Soxhlet	Hexano e acetona	18 horas	GC/ECD	[65] (2022)
PBDE 47	15,88 ng g ⁻¹							
PBDE 99	19,76 ng g ⁻¹							
PBDE 100	11,32 ng g ⁻¹							
PBDE 153	23,15 ng g ⁻¹							
PBDE 154	7,09 ng g ⁻¹							
PBDE 183	11,40 ng g ⁻¹							
PBDE 28	0,031 ng L ⁻¹ ou (0,00003 µg L ⁻¹)	Lodo de esgoto	4 Litros	Extração Líquido-Líquido	Diclorometano	-	GC/MS	[66] (2013)
PBDE 47	0,094 ng L ⁻¹							
PBDE 99	1,480 ng L ⁻¹							
PBDE 100	0,185 ng L ⁻¹							
PBDE 153	0,143 ng L ⁻¹							
PBDE 154	0,003 ng L ⁻¹							
PBDE 183	0,005 ng L ⁻¹							
PBDE 209	54,211 ng L ⁻¹							

*ng g⁻¹ de peso seco

Tabela 15. Concentração de PBDEs encontrados em amostras de lodo de esgoto e sedimentos e comparação do método de DLLME/MIL proposto com outros presentes na literatura

(Conclusão)

Analitos	Concentração na amostra	Amostra	Quantidade de Amostra	Técnica de extração	Solvente utilizado	Tempo de extração	Técnica de análise	Ref.
PBDE 28	0,04 ng g ⁻¹ ou (4 000 µg L ⁻¹)	Lodo de esgoto	15 g	Soxhlet	Acetona e hexano	48 horas	GC/MS	[67] (2017)
PBDE 47	2,08 ng g ⁻¹							
PBDE 66	0,02 ng g ⁻¹							
PBDE 85	0,03 ng g ⁻¹							
PBDE 99	2,04 ng g ⁻¹							
PBDE 100	0,03 ng g ⁻¹							
PBDE 138	1,87 ng g ⁻¹							
PBDE 153	0,71 ng g ⁻¹							
PBDE 154	0,02 ng g ⁻¹							
PBDE 196	0,73 ng g ⁻¹							
PBDE 197	0,72 ng g ⁻¹							
PBDE 203	0,55 ng g ⁻¹							
PBDE 206	10,25 ng g ⁻¹							
PBDE 207	8,49 ng g ⁻¹							
PBDE 208	5,40 ng g ⁻¹							
PBDE 209	623,20 ng g ⁻¹							
PBDE 28	800 µg L ⁻¹	Lodo de esgoto	8,50 mL	DLLM E/MIL	ACN/MeOH	10 min	Py-GC-MS	Presente trabalho (2023)

*ng g⁻¹ de peso seco

Fonte: Elaborado pela autora (2023).

5. CONCLUSÕES

No âmbito desta pesquisa, foi possível realizar a preparação do líquido iônico magnético (MIL) por meio de uma metodologia simples, composta por poucas etapas. A caracterização e confirmação da síntese do MIL também foram efetuadas com sucesso.

A utilização do MIL como solvente extrator revelou-se promissora, dado que suas propriedades físico-químicas e estruturais o destacam como uma alternativa altamente vantajosa em comparação aos solventes orgânicos convencionais empregados em microextração em fase líquida. Além disso, sua natureza magnética conferiu celeridade ao processo de microextração, eliminando a necessidade da etapa de centrifugação.

A otimização dos parâmetros de injeção de amostra e da microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME) foi realizada por meio de abordagens multivariadas, resultando na redução do número de experimentos necessários. Essa estratégia permitiu a obtenção da condição ótima de trabalho, considerando interações entre os parâmetros avaliados. Sob tal condição, a aplicação da DLLME em amostras de lodo de esgoto proporcionou um desempenho analítico satisfatório, com valores de limite de detecção (LOD), limite de quantificação (LOQ) e precisão aceitáveis. Ainda são necessários estudos sobre efeito matriz, recuperação e fator de enriquecimento do método para finalizar as figuras de mérito.

O método desenvolvido foi aplicado com êxito na determinação de Éteres Difenil-polibromados (PBDEs) em amostras de lodo de esgoto. Destaca-se como o primeiro relato da utilização da técnica DLLME/MIL e da introdução de amostras por meio de pirolisador para análise em cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS). Até o presente momento, não há descrição de outro método na literatura que empregue essa configuração experimental.

Ressalta-se a incompatibilidade de injetar diretamente o MIL em sistemas de cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas, podendo levar à degradação no injetor e à formação de artefatos prejudiciais à análise. A utilização do pirolisador minimizou esses efeitos, resultando em um desempenho otimizado do equipamento.

Por fim, a DLLME/MIL demanda pequenos volumes de amostras e solventes, apresentando um tempo de extração rápido em comparação com métodos convencionais. Adicionalmente, este trabalho adere aos princípios da Química Analítica Verde ao reduzir

significativamente os volumes de reagentes e insumos utilizados, alinhando-se à diminuição do tempo de análises e volumes de solventes.

Este estudo contribui significativamente ao conhecimento da quantificação de retardantes de chama polibromados em amostras de lodo de esgoto. Dada a toxicidade e bioacumulação desses contaminantes, sua presença em matrizes ambientais suscita preocupações diversas. A identificação e quantificação proporcionadas por este trabalho podem incitar pesquisas adicionais para o desenvolvimento de métodos de tratamento eficazes para mitigar a presença desses contaminantes no meio-ambiente.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] S. N. de I. sobre S.- SNIS, “AGO / 2022 Diagnóstico Temático Serviços de Água e Esgoto Gestão Técnica de Esgoto Serviços de Água e Esgoto,” 2022.
- [2] TRATA BRASIL, “Ranking Do Saneamento Instituto Trata Brasil 2021,” *Inst. Trata Bras.*, vol. 2022, no. Snis 2020, p. 130, 2021, [Online]. Available: <http://www.tratabrasil.org.br>
- [3] Agência Nacional de Águas, *Atlas águas: segurança hídrica do abastecimento urbano*. 2021. [Online]. Available: <https://portal1.snirh.gov.br/ana/apps/storymaps/stories/1d27ae7adb7f4baeb224d5893cc21730>
- [4] M. Ambiente, M. Miguel, E. Temer, and C. A. Klink, “1984 - 2012,” 2012.
- [5] D. M. Bila and M. Dezotti, “Desreguladores endócrinos no meio ambiente: efeitos e conseqüências,” *Quim. Nova*, vol. 30, no. 3, pp. 651–666, 2007, doi: 10.1590/s0100-40422007000300027.
- [6] C. Sophia A. and E. C. Lima, “Removal of emerging contaminants from the environment by adsorption,” *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, vol. 150, no. December 2017, pp. 1–17, 2018, doi: 10.1016/j.ecoenv.2017.12.026.
- [7] P. Guerra, A. Covaci, E. Eljarrat, and D. Barceló, *Recent Methodologies for Brominated Flame Retardant Determinations by Means of Liquid Chromatography–Mass Spectrometry*. 2010. doi: 10.1007/698_2010_94.
- [8] M. V. Silva *et al.*, “Retardantes de Chama Bromados: Éteres Difenílicos Polibromados (PBDEs),” *Acta Farm. Port.*, vol. 3, no. 1, pp. 67–78, 2014, [Online]. Available: <http://www.actafarmaceuticaportuguesa.com/index.php/afp/article/view/42>
- [9] X. Xu, M. Liu, Y. Zhang, and Y. Zhang, “Phytotoxicity of BDE-28, BDE-47 and BDE-99 to maize (*Zea mays* L.) during germination and early growth,” *South African J. Bot.*, vol. 153, pp. 94–101, 2023, doi: 10.1016/j.sajb.2022.12.008.
- [10] J.D.Lee, *Química inorgânica não tão concisa*. 1999.
- [11] L. Cheng *et al.*, “Toxic effects of Decabromodiphenyl ether (BDE-209) on thyroid of broiler chicks by transcriptome profile analysis,” *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, vol. 219, no. February, p. 112305, 2021, doi: 10.1016/j.ecoenv.2021.112305.
- [12] E. Eljarrat and D. Barceló, *The handbook of environmental chemistry*, vol. 27, no. 2. 1982. doi: 10.1016/0143-1471(82)90111-8.
- [13] A. Bartalini, J. Muñoz-Arnanz, N. García-Álvarez, A. Fernández, and B. Jiménez, “Global PBDE contamination in cetaceans. A critical review,” *Environ. Pollut.*, vol. 308, no. June, 2022, doi: 10.1016/j.envpol.2022.119670.
- [14] G. Abbasi, L. Li, and K. Breivik, “Global Historical Stocks and Emissions of PBDEs,” *Environ. Sci. Technol.*, vol. 53, no. 11, pp. 6330–6340, 2019, doi: 10.1021/acs.est.8b07032.
- [15] U. L. Baskaran, S. J. Martin, R. Mahaboobkhan, and S. E. Prince, “Protective role of Triphala, an Indian traditional herbal formulation, against the nephrotoxic effects of bromobenzene in Wistar albino rats,” *J. Integr. Med.*, vol. 13, no. 2, pp. 115–121,

- 2015, doi: 10.1016/S2095-4964(15)60165-0.
- [16] D. Majid and A. R. Prabowo, "Ferrate(VI) performance on the halogenated benzene degradation: Degradation test and by-product analysis," *Mater. Today Proc.*, vol. 63, pp. S282–S286, 2022, doi: 10.1016/j.matpr.2022.02.470.
 - [17] J. L. Zurita, Á. Jos, A. del Peso, M. Salguero, M. López-Artíguez, and G. Repetto, "Ecotoxicological assessment of bromobenzene using a test battery with five model systems," *Food Chem. Toxicol.*, vol. 45, no. 4, pp. 575–584, 2007, doi: 10.1016/j.fct.2006.10.006.
 - [18] M. C. Pieronia, J. Leonelb, and G. Fillmann, "Quim. Nova," vol. 40, no. 3, pp. 317–326, 2017.
 - [19] F. J. SKOOG, Douglas A.; WEST, Donald M.; HOLLER, "FUNDAMENTOS DE QUÍMICA ANALÍTICA," *Tradução da 8ª Edição norte-americana*, Ed. Thomson, p. 899, 2005.
 - [20] H. M. McNair and J. M. Miller, *Basic Gas*. 1933.
 - [21] Z. Ma, J. Xie, N. Gao, and C. Quan, "Pyrolysis behaviors of oilfield sludge based on Py-GC/MS and DAEM kinetics analysis," *J. Energy Inst.*, vol. 92, no. 4, pp. 1053–1063, 2019, doi: 10.1016/j.joei.2018.07.001.
 - [22] A. Hosaka, A. Watanabe, C. Watanabe, N. Teramae, and H. Ohtani, "Polymer-coated sample cup for quantitative analysis of semi-volatile phthalates in polymeric materials by thermal desorption-gas chromatography-mass spectrometry," *J. Chromatogr. A*, vol. 1391, no. 1, pp. 88–92, 2015, doi: 10.1016/j.chroma.2015.02.066.
 - [23] M. E. Seeley and J. M. Lynch, "Previous successes and untapped potential of pyrolysis–GC/MS for the analysis of plastic pollution," *Anal. Bioanal. Chem.*, no. 0123456789, 2023, doi: 10.1007/s00216-023-04671-1.
 - [24] H. A. Leslie, M. J. M. van Velzen, S. H. Brandsma, A. D. Vethaak, J. J. Garcia-Vallejo, and M. H. Lamoree, "Discovery and quantification of plastic particle pollution in human blood," *Environ. Int.*, vol. 163, no. March, p. 107199, 2022, doi: 10.1016/j.envint.2022.107199.
 - [25] B. Vilakati, V. Sivasankar, B. B. Mamba, K. Omine, and T. A. M. Msagati, "Characterization of plastic micro particles in the Atlantic Ocean seashore of Cape Town, South Africa and mass spectrometry analysis of pyrolyzate products," *Environ. Pollut.*, vol. 265, p. 114859, 2020, doi: 10.1016/j.envpol.2020.114859.
 - [26] F. J. (CENA) Krug and F. R. P. (CENA) Rocha, *Métodos de Preparo de Amostras Para Análise Elementar*. 2019.
 - [27] B. J. Moreira, J. M. C. Yokoya, and C. M. Gaitani, "DLLME fundamentos, aplicações, inovações análise biológica," *Sci. Chromatogr.*, vol. 6, no. 3, pp. 186–204, 2014.
 - [28] R. Marcinkowska, K. Konieczna, Ł. Marcinkowski, J. Namieśnik, and A. Kloskowski, "Application of ionic liquids in microextraction techniques: Current trends and future perspectives," *TrAC - Trends Anal. Chem.*, vol. 119, 2019, doi: 10.1016/j.trac.2019.07.025.
 - [29] M. Sajid, "Magnetic ionic liquids in analytical sample preparation: A literature review," *TrAC - Trends Anal. Chem.*, vol. 113, pp. 210–223, 2019, doi:

10.1016/j.trac.2019.02.007.

- [30] J. Merib, D. A. Spudeit, G. Corazza, E. Carasek, and J. L. Anderson, "Magnetic ionic liquids as versatile extraction phases for the rapid determination of estrogens in human urine by dispersive liquid-liquid microextraction coupled with high-performance liquid chromatography-diode array detection," *Anal. Bioanal. Chem.*, vol. 410, no. 19, pp. 4689–4699, 2018, doi: 10.1007/s00216-017-0823-7.
- [31] C. Will, R. D. Huelsmann, G. Mafra, J. Merib, J. L. Anderson, and E. Carasek, "High-throughput approach for the in situ generation of magnetic ionic liquids in parallel-dispersive droplet extraction of organic micropollutants in aqueous environmental samples," *Talanta*, vol. 223, no. P2, p. 121759, 2021, doi: 10.1016/j.talanta.2020.121759.
- [32] A. Joseph, G. Zylá, V. I. Thomas, P. R. Nair, A. S. Padmanabhan, and S. Mathew, "Paramagnetic ionic liquids for advanced applications: A review," *J. Mol. Liq.*, vol. 218, pp. 319–331, 2016, doi: 10.1016/j.molliq.2016.02.086.
- [33] M. W. M. Cunico, M. M. Cunico, O. G. Miguel, S. F. Zawadzki, P. Peralta-Zamora, and N. Volpato, "PLANEJAMENTO FATORIAL: UMA FERRAMENTA ESTATÍSTICA VALIOSA PARA A DEFINIÇÃO DE PARÂMETROS EXPERIMENTAIS EMPREGADOS NA PESQUISA CIENTÍFICA," *Visão Acadêmica, Curitiba*, v.9, n.1, pp. 23–32, 2008.
- [34] E. R. Pereira-Filho, V. M. F. Pereira, and S. G. Lemos, "Introducing Factorial Design Concepts Using Experiments with Multi- Colored Chocolates," *Chem. Educ.*, vol. 14, no. 09, pp. 200–203, 2009, doi: 10.1333/s00897092238a.
- [35] F. M. V. Pereira and E. R. Pereira-Filho, "Application of free computational program in experimental design: A tutorial," *Quim. Nova*, vol. 41, no. 9, pp. 1061–1071, 2018, doi: 10.21577/0100-4042.20170254.
- [36] B. BARROS NETO, I. S. SCARMINIO, and R. E. BRUNS, *Como Fazer Experimentos: Pesquisa e Desenvolvimento na Ciência e na Indústria*. 2001.
- [37] V. Calado and D. Montgomery, *Planejamento de experimentos usando o Statistica*. Rio de Janeiro: E-papers Serviços Editoriais, 2003.
- [38] R. H. Myers, D. C. Montgomery, and C. M. Anderson-Cook, *Response Surface Methodology, Hoboken*. 2008.
- [39] S. L. C. Ferreira *et al.*, "Box-Behnken design: An alternative for the optimization of analytical methods," *Anal. Chim. Acta*, vol. 597, no. 2, pp. 179–186, 2007, doi: 10.1016/j.aca.2007.07.011.
- [40] P. S. Collins, Carol H. Braga, Gilberto L. Bonato, *Fundamentos de cromatografia*. 2006.
- [41] ANVISA, "ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária/Resolução RE nº 899, de 29 de maio de 2003," pp. 1–15, 2003.
- [42] FDA, "Analytical Procedures and Methods Validation for Drugs and Biologics Guidance for Industry Analytical Procedures and Methods Validation for Drugs and Biologics Guidance for Industry," *Pharm. Qual.*, no. July, 2015.
- [43] INMETRO, "Guidance in validation of analytical methods (in Portuguese)," *Inst. Nac.*

- Metrol. Qual. e Tecnol.*, p. 31, 2016, [Online]. Available: http://www.inmetro.gov.br/Sidoq/Arquivos/CGCRE/DOQ/DOQ-CGCRE-8_05.pdf
- [44] W. G. De Ruig, "Characterizing and optimizing analytical method quality," *Trends Food Sci. Technol.*, vol. 7, no. 7, pp. 234–240, 1996, doi: 10.1016/0924-2244(96)20004-4.
 - [45] P. O. Box and N.-B. A. Bilthoven, "Relationship between legal procedures and materials," pp. 370–377, 1990.
 - [46] E. Santos, J. Albo, A. Rosatella, C. A. M. Afonso, and Á. Irabien, "Synthesis and characterization of Magnetic Ionic Liquids (MILs) for CO₂ separation," *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, vol. 89, no. 6, pp. 866–871, 2014, doi: 10.1002/jctb.4323.
 - [47] D. L. Pavia, G. M. Lampman, and Georg S. Kriz, "Pavia - Introduction to Spectroscopy." p. 680, 2001.
 - [48] S. Pitula and A. V. Mudring, "Synthesis, structure, and physico-optical properties of manganate(II)-based ionic liquids," *Chem. - A Eur. J.*, vol. 16, no. 11, pp. 3355–3365, 2010, doi: 10.1002/chem.200802660.
 - [49] F. J. C. e D. J. C. G. Massao Ionashiro, "Giolito: fundamentos da termogravimetria e análise térmica diferencia/calorimetria exploratória diferencial," *Giz Editor.*, vol. 2, no. 196, 2015.
 - [50] J. Liang *et al.*, "The formation pathways of polybrominated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans (PBDD/Fs) from pyrolysis of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs): Effects of bromination arrangement and level," *J. Hazard. Mater.*, vol. 399, no. May, p. 123004, 2020, doi: 10.1016/j.jhazmat.2020.123004.
 - [51] R. Weber and B. Kuch, "Relevance of BFRs and thermal conditions on the formation pathways of brominated and brominated-chlorinated dibenzodioxins and dibenzofurans," *Environ. Int.*, vol. 29, no. 6, pp. 699–710, 2003, doi: 10.1016/S0160-4120(03)00118-1.
 - [52] L. R. Snyder and J. J. Kirkland, *Introduction to modern liquid chromatography*, vol. (I-XVIII)+5. 1974. doi: 10.1093/jaoac/58.1.169.
 - [53] ANVISA, "Farmacopeia Brasileira, Primeiro Suplemento," 03/02/2016, p. 143, 2016, [Online]. Available: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/33832/259143/LIVRO+FB+5.1+-+vers?o+4+-+18-11-16.pdf/2d43f4e4-bf25-49a3-994c-d10cf5e47dcf>
 - [54] M. Rezaee, Y. Yamini, and M. Faraji, "Evolution of dispersive liquid-liquid microextraction method," *J. Chromatogr. A*, vol. 1217, no. 16, pp. 2342–2357, 2010, doi: 10.1016/j.chroma.2009.11.088.
 - [55] X. Ding, C. Liu, W. Yu, and Z. Liu, "Magnetic ionic liquid-based liquid-liquid microextraction followed by ultra-performance liquid chromatography coupled with triple-quadrupole tandem mass spectrometry for simultaneous determination of neurotransmitters in human cerebrospinal fluid and plas," *Talanta*, vol. 262, no. January, p. 124690, 2023, doi: 10.1016/j.talanta.2023.124690.
 - [56] T. Yuzawa, A. Hosaka, C. Watanabe, and S. Tsuge, "Evaluation of the thermal desorption-GC/MS method for the determination of decabromodiphenyl ether (DeBDE) in order of a few hundred ppm contained in a certified standard polystyrene

- sample,” *Anal. Sci.*, vol. 24, no. 8, pp. 953–955, 2008, doi: 10.2116/analsci.24.953.
- [57] T. Mochizuki, S. Y. Chen, M. Toba, and Y. Yoshimura, “Pyrolyzer-GC/MS system-based analysis of the effects of zeolite catalysts on the fast pyrolysis of *Jatropha* husk,” *Appl. Catal. A Gen.*, vol. 456, pp. 174–181, 2013, doi: 10.1016/j.apcata.2013.02.022.
 - [58] S. Ghysels, D. Rathnayake, P. Maziarka, O. Mašek, S. Sohi, and F. Ronsse, “Biochar stability scores from analytical pyrolysis (Py-GC-MS),” *J. Anal. Appl. Pyrolysis*, vol. 161, no. December 2021, 2022, doi: 10.1016/j.jaap.2021.105412.
 - [59] H. Mizuguchi *et al.*, “Direct analysis of airborne microplastics collected on quartz filters by pyrolysis-gas chromatography/mass spectrometry,” *J. Anal. Appl. Pyrolysis*, vol. 171, no. February, p. 105946, 2023, doi: 10.1016/j.jaap.2023.105946.
 - [60] H. Zhu, H. Sun, Y. Yao, Z. Gan, Y. Wang, and K. Kannan, “Legacy and alternative brominated flame retardants in outdoor dust and pine needles in mainland China: Spatial trends, dust-plant partitioning and human exposure,” *Environ. Pollut.*, vol. 243, pp. 758–765, 2018, doi: 10.1016/j.envpol.2018.08.097.
 - [61] Y. Wang *et al.*, “Annual flux estimation and source apportionment of PCBs and PBDEs in the middle reach of Yangtze River, China,” *Sci. Total Environ.*, vol. 885, no. May, p. 163772, 2023, doi: 10.1016/j.scitotenv.2023.163772.
 - [62] A. Cincinelli *et al.*, “PBDEs in Italian sewage sludge and environmental risk of using sewage sludge for land application,” *Environ. Pollut.*, vol. 161, no. July 2008, pp. 229–234, 2012, doi: 10.1016/j.envpol.2011.11.001.
 - [63] H. Li, R. Qu, L. Yan, W. Guo, and Y. Ma, “Field study on the uptake and translocation of PBDEs by wheat (*Triticum aestivum* L.) in soils amended with sewage sludge,” *Chemosphere*, vol. 123, pp. 87–92, 2015, doi: 10.1016/j.chemosphere.2014.12.045.
 - [64] H. Stiborova *et al.*, “Aerobic biodegradation of selected polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in wastewater sewage sludge,” *Chemosphere*, vol. 118, no. 1, pp. 315–321, 2015, doi: 10.1016/j.chemosphere.2014.09.048.
 - [65] K. Oloruntoba, O. Sindiku, O. Osibanjo, and R. Weber, “Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) concentrations in soil, sediment and water samples around electronic wastes dumpsites in Lagos, Nigeria,” *Emerg. Contam.*, vol. 8, pp. 206–215, 2022, doi: 10.1016/j.emcon.2022.03.003.
 - [66] X. Wang *et al.*, “Characterization, treatment and releases of PBDEs and PAHs in a typical municipal sewage treatment plant situated beside an urban river, East China,” *J. Environ. Sci. (China)*, vol. 25, no. 7, pp. 1281–1290, 2013, doi: 10.1016/S1001-0742(12)60201-0.
 - [67] Q. Wu *et al.*, “Occurrence of PBDEs and alternative halogenated flame retardants in sewage sludge from the industrial city of Guangzhou, China,” *Environ. Pollut.*, vol. 220, pp. 63–71, 2017, doi: 10.1016/j.envpol.2016.09.023.