

RESSALVA

**Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo deste
documento será
disponibilizado somente a
partir de 26/08/2026.**

KARLA VIRGÍNIA LEITE LIMA

**DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO DE MICROEXTRAÇÃO LÍQUIDO-
LÍQUIDO ASSISTIDA POR VÓRTEX (VA-LLME) PARA A EXTRAÇÃO DE
SUBSTÂNCIAS PERFLUOROALQUILADAS DE MATRIZES AQUÁTICAS**

Relatório de Pós-doutorado realizado
na Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho” (UNESP),
Instituto de Química, Campus
Araraquara

Supervisora: Prof^a. Dr^a. Raquel
Fernandes Pupo Nogueira

Edital 05/2024/PROPe - Programa UNESP de Pós-Doutorado

Araraquara

2025

RESUMO

As substâncias per e polifluoroalquilados (PFAS) são substâncias persistentes no ambiente que ao longo dos anos foram amplamente utilizados em uma variedade de produtos, levando à sua disseminação global. Os PFAS, são considerados desreguladores endócrinos e estão associados a diversos efeitos nocivos à saúde humana, incluindo desenvolvimento de câncer. O Brasil apresenta uma carência significativa de estudos sobre a presença de PFAS em ambientes aquáticos. A falta de dados no país ressalta a necessidade de avaliar a contaminação por PFAS em diferentes matrizes aquáticas. As dificuldades na amostragem e no desenvolvimento de métodos analíticos para PFAS, incluindo a complexidade da matriz, a contaminação de amostras, e múltiplas etapas para a preparação da amostra são desafios que devem ser superados disseminando procedimentos mais simples para preparo e análise de amostras contendo PFAS. Diante desse cenário, este projeto teve como objetivo investigar a aplicação da técnica de microextração assistida por vortex (VALLME) para a extração do ácido perfluorooctanóico (PFOA), o ácido heptabuntanóico (HFBA) e o ácido perfluorobutano sulfônico (PFBS) em amostras aquosas. Para a otimização do processo, foi utilizado um planejamento fatorial 2^3 , avaliando a influência do pH, volume do extrator (acetato de etila) e tempo de vórtex. O método se mostrou promissor para a extração do HFBA e do PFOA, principalmente em meio ácido, com resultados positivos mesmo em efluente de Estação de Tratamento de Esgoto. De forma geral conclui-se que o método VALLME apresenta boa eficiência para a extração de PFAS, mas a disponibilidade de equipamentos analíticos com maior sensibilidade, necessários para a validação do método.

Palavras chaves: poluentes orgânicos persistentes, ácidos carboxílicos perfluoroalquilados, ácidos perfluoroalquilados sulfônicos, PFOA, HFBA, PFBS.

1. INTRODUÇÃO

As substâncias per e polifluoroalquilados (PFAS) constituem uma classe de compostos orgânicos caracterizados pela presença de átomos de carbono e flúor ligados entre si, muitas vezes com a inclusão de grupos funcionais distintos em pelo menos um dos átomos de carbono. Essa classe se destaca por serem estáveis térmica, física e quimicamente, características que lhe conferem a denominação de "compostos químicos eternos" devido à sua persistência ambiental (DOMINGO; NADAL, 2019; LEONEL *et al.*, 2023; STEFANO *et al.*, 2023).

Ao longo de mais de sete décadas, os PFAS têm sido extensivamente utilizados na produção de uma variedade de produtos, abrangendo desde pesticidas e produtos de limpeza até espumas antichamas, vernizes, embalagens de alimentos e aplicações em processos de galvanoplastia para revestimento de metais (LEONEL *et al.*, 2023; STEFANO *et al.*, 2023).

Devido à sua persistência e toxicidade, muitos países e organizações têm demonstrado preocupação com a presença desses compostos no ambiente. Em 2009 alguns PFAS foram incluídos na lista de restrição de uso da Convenção de Estocolmo e listou esses compostos como Poluentes Orgânicos Persistentes (POP) (LEONEL *et al.*, 2023). Alguns estudos já destacaram a complexidade e diversidade dos efeitos negativos dos PFAS no organismo humano. A exposição a esses compostos foi associada à desregulação do sistema endócrino e modificações no desenvolvimento do tecido mamário, (RICKARD *et al.*, 2022) aumento de hormônios masculinos (RICKARD *et al.*, 2022) e ao surgimento de câncer (STEENLAND; WINQUIST, 2021). No Brasil um estudo detectou a presença do ácido perfluorobutano sulfônico (PFOS) e do ácido perfluorooctanóico (PFOA) no sangue de mulheres grávidas com concentrações médias de $3,34 \mu\text{g L}^{-1}$ e $0,20 \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente. Este estudo evidenciou que a presença desses compostos na corrente sanguínea pode resultar em restrição de crescimento intrauterino, associada a nascimento prematuro e desenvolvimento inadequado do feto no útero (SOUZA *et al.*, 2020).

Com avanços nas técnicas de detecção, ao longo dos anos, trabalhos têm documentado a presença de PFAS em diversas matrizes, incluindo ar (KOURTCHEV *et al.*, 2023), águas (DOMINGO; NADAL, 2019; POZO *et al.*, 2022; QUINETE *et al.*, 2009; SCHWANZ *et al.*, 2016; SHARMA *et al.*, 2016;

STEFANO *et al.*, 2023), solo e folhas de plantas (NASCIMENTO *et al.*, 2018) . Entretanto os dados de ocorrência desses compostos no Brasil ainda são escassos. Um artigo de revisão publicado em 2022 mostrou dados de apenas 4 estudos que avaliaram a presença de PFAS em águas no Brasil (TORRES *et al.*, 2022). Em 2023, apenas mais dois estudos foram adicionados a essa lista, totalizando seis estudos entre os anos de 2009 e 2023 (LÖFSTEDT GILLJAM *et al.*, 2016; MADEIRA *et al.*, 2023; NASCIMENTO *et al.*, 2018; QUINETE *et al.*, 2009; SCHWANZ *et al.*, 2016; STEFANO *et al.*, 2023). Os dados provenientes dos estudos realizados no Brasil, revelam a presença de PFAS com concentrações variando entre 0,06 ng L⁻¹ a 249 ng L⁻¹. Esses compostos foram predominantemente identificados em águas superficiais, mas também foram quantificados em águas subterrâneas e água potável, com concentrações de até 47 ng L⁻¹ nesta última matriz (SCHWANZ *et al.* 2016). No país, a maioria dos PFAS foram encontrados em concentrações abaixo de 50 ng L⁻¹, mas o PFOA foi o composto encontrado em maior concentração (249 ng L⁻¹). Apesar de baixas, nessas concentrações esses compostos já podem representar riscos. Os EUA por exemplo estabeleceram em 2022, concentrações seguras abaixo de 0,004 ng L⁻¹ e 0,02 ng L⁻¹ para PFOA e PFOS, respectivamente, em amostra de água potável (ITRC, 2023).

A técnica de cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas em modo tandem (LC-MS/MS) destaca-se como uma técnica sensível e seletiva na detecção de PFAS. A comprovação da eficiência dessa técnica para detecção de PFAS é evidenciada pelo método 537.1, estabelecido pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (USEPA) para a análise de PFAS selecionados em água potável, o qual foi especificamente desenvolvido para ser aplicado em conjunto com LC-MS/MS (USEPA, 2020).

No entanto, mesmo com essa abordagem avançada, alguns desafios ainda podem ser enfrentados. De acordo com a revisão recente feita por (ZAREBSKA and BAJKACZ 2023) entre os principais desafios para determinação dos PFAS estão:

- i. A complexidade da matriz e baixas concentrações dos PFAS: As reduzidas concentrações de PFAS demandam métodos analíticos com limites de detecção baixos, o que pode aumentar a contribuição de interferentes, resultando tanto na supressão quanto no aumento dos sinais dos analitos de

interesse. A complexidade da matriz influencia diretamente a presença de interferentes orgânicos na análise. Algumas moléculas de PFAS podem apresentar eficiência variável na ionização, e a presença de íons na matriz pode causar supressão de sinal. Para superar esse desafio é necessário o ajuste adequado dos parâmetros de análise no instrumento e uma boa etapa de preparo de amostra visando minimizar a influência da matriz nas análises

ii. Contaminação de amostra: devido à adsorção de PFAS em superfícies de vários materiais e sua onipresença em outros, é necessário evitar a coleta e armazenamento de amostras em matérias que podem modificar a amostra. A contaminação de amostras pelos materiais de coleta e armazenamento pode ser melhorada com lavagens prolongadas com solventes apropriados. Também é importante a descontaminação do equipamento onde serão feitas as análises de PFAS. Esse problema pode ser solucionado com a análise constante de brancos e a instalação de uma coluna de atraso, que captura PFAS presentes no sistema e os coloca na coluna analítica com um atraso para que os contaminantes no sistema não interfiram na análise.

iii. Falta de padrões autênticos e marcados isotopicamente para análise de PFAS menos convencionais que ficam sem dados de ocorrência, bem como protocolos padronizados para detecção específica, precisa e sensível desses compostos.

iv. Múltiplas etapas para preparação da amostra antes da análise por LC-MS/MS. É necessária a busca por métodos que simplifiquem o procedimento de preparação, garantindo eficiência na purificação da amostra com elevada repetibilidade e sensibilidade.

A técnica predominante para o preparo de amostras em estudos que investigam a presença de PFAS em amostras aquosas é a extração em fase sólida (SPE). Nesse método, as amostras passam por um material sorvente capaz de reter os analitos em estudo, os quais são posteriormente eluídos por solventes que possuem maior afinidade com esses analitos (JARDIM, 2010). Essa técnica pode desempenhar um papel triplo, sendo empregada tanto como uma etapa de extração, "clean-up" para remover interferentes que poderiam comprometer a análise dos analitos, quanto como uma etapa de concentração, visando aumentar a concentração de amostras com baixas quantidades dos analitos. Isso facilita a detecção dos analitos por métodos analíticos. No entanto,

existem algumas desvantagens ao aplicar essa técnica como, o custo elevado, desperdício e contaminação dos cartuchos descartáveis que contém o material sorvente utilizados na SPE, e o gasto com tempo e de solventes orgânicos pela necessidade de etapas de condicionamentos, lavagem e pré-concentração, além da limitação para análise de um grande número de amostras (CONCHA-GRAÑA *et al.*, 2018; VELA-SORIA *et al.*, 2020; YAN; WANG, 2013).

Diversos métodos de preparo de amostra oferecem alternativas para mitigar essas questões, e um deles é a microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME). Nessa técnica, o procedimento se inicia com a injeção de solventes extrator e dispersor na amostra líquida. A presença do solvente dispersor facilita a dispersão do solvente extrator, o qual, ao entrar na fase aquosa, extrai os analitos. Devido à grande área superficial entre as gotículas do solvente de extração e a amostra em fase líquida, o equilíbrio é atingido em um curto espaço de tempo e logo em seguida a solução é centrifugada para sedimentação do extrato, que posteriormente é transferido para um microvial e analisado (MARTINS *et al.*, 2012; YAN; WANG, 2013).

Com o intuito de simplificar o procedimento de extração e reduzir o uso de solventes, alguns autores propõem a substituição do solvente dispersor por uma etapa de agitação, normalmente por vórtex, a fim de promover a formação da emulsão (ou fase turva) necessária para o processo. Essa abordagem caracteriza a técnica conhecida como microextração líquido-líquido assistida por vórtex (VALLME). Ao adotar essa estratégia, a extração por DLLME torna-se mais simples, utilizando apenas um solvente de extração, sem a necessidade de um segundo solvente para dispersão (CONCHA-GRAÑA *et al.*, 2018). Esta técnica apresenta várias vantagens, destacando-se o consumo reduzido de solventes. Essa característica não apenas contribui para a diminuição de resíduos, mas também resulta em custos mais baixos associados ao processo. Além disso, a VALLME é uma técnica rápida, devido à rápida obtenção de um estado de equilíbrio, conferindo agilidade ao procedimento quando comparada à SPE (CONCHA-GRAÑA *et al.*, 2018; YAN; WANG, 2013).

¹, é necessário o uso de técnicas analíticas mais sensíveis, como o HPLC-MS/MS, especialmente para aplicação do método de extração em amostras reais em que os analitos se encontram em concentrações de ng L⁻¹.

É importante dizer que, a próxima etapa do trabalho envolveria um estudo mais aprofundado das possíveis causas das recuperações do PFOA estarem acima de 120% nas análises realizadas por HPLC-MS/MS, mesmo após o uso de vidrarias descontaminadas. Essa investigação é essencial para avaliar a hipótese da presença de algum interferente durante a análise instrumental, como um possível efeito de carryover no sistema MS/MS. Além disso, também é necessário fazer a validação do método, incluindo análises de precisão, exatidão, linearidade, LD e LQ. A validação do método não foi realizada, uma vez que, apesar da disponibilidade do HPLC-DAD-UV, esse sistema apresenta LD e LQ com valores mais altos quando comparado ao HPLC-MS/MS. Isso dificulta a aplicação do método validado em amostras reais, onde os PFAS são encontrados em concentrações na faixa de ng L⁻¹, tornando indispensável o uso de técnicas mais sensíveis. Porém os resultados apresentados neste trabalho abrem portas para a determinação de PFAS em matrizes aquosas por um método simples e rápido.

5. CONCLUSÃO

O método VALLME demonstrou ser promissor para a extração dos PFAS estudados, em especial o PFOA e o HFBA, extraindo os compostos rapidamente em meio ácido e com baixo consumo de solvente, especialmente, indicando que a extração desses compostos é favorecida quando estão na forma neutra. Além disso, os testes preliminares realizados com efluente de ETE também apresentaram resultados positivos, com recuperação do PFOA superior a 100% em pH 3,0, indicando que o método apresenta aplicabilidade mesmo em matrizes mais complexas.

A próxima etapa do trabalho envolverá um estudo mais detalhado sobre as recuperações acima de 120% observadas nas análises por HPLC-MS/MS e a validação do método e sua aplicação em amostras reais.

Dessa forma, conclui-se que o método VALLME apresenta boa eficiência na extração do PFOA e do HFBA. Porém, sua validação ainda depende do uso de técnicas mais sensíveis como o HPLC-MS/MS. Assim, a continuidade do

estudo está condicionada à disponibilidade de técnica analítica mais adequada. Porém, é importante ressaltar que os resultados apresentados neste estudo abrem possibilidades para pesquisas futuras na área. Dessa forma são perspectivas de trabalhos futuros: a validação completa do método, avaliando a linearidade, precisão, exatidão, LD e LQ, robustez e seletividade, utilizando o HPLC-MS/MS e a aplicação o método para extração de outros PFAS e em diferentes tipos de matrizes aquosas como águas superficiais e água potável.

6. ORIENTAÇÕES

Aluna: Isabela Rodrigues Massaroto. Aplicação de fotocatalisador de óxido de ferro suportado em areia em reator de leito fluidizado. Período: 08/2024 a 06/2025. Aluna sem bolsa.

Aluna: Isabella Zacheo Costa. Degradação da norfloxacin e cefalexina por processo foto-Fenton solar em reator de pista. Período: 08/2024 a 06/2025. Projeto submetido ao Edital PROPe Unesp Nº 08/2025.

7. COMENTÁRIOS DO SUPERVISOR

A pós-doutoranda teve um ótimo desempenho na condução de um projeto desafiador do ponto de vista analítico considerando a instrumentação disponível e os compostos-alvo. Os resultados abrem a possibilidade de determinação dos PFAS em amostras de efluente com um procedimento simples e de baixo custo. O projeto terá continuidade no grupo, a partir dos resultados obtidos para a validação do método. A pós-doutoranda demonstrou maturidade tanto na condução do projeto específico, como na colaboração em trabalhos conduzidos no grupo de pesquisa, incluindo a orientação de duas alunas de iniciação científica. Também teve uma ótima produção no período, quando publicou 5 artigos científicos em periódicos de bom impacto na área.

8. REFERÊNCIAS

ANVISA. Resolução RDC no 166, de 24 de julho de 2017. Dispõe sobre a validação de métodos analíticos e dá outras providências, [s. l.], v. 2017, p. 87, 2017.

CONCHA-GRAÑA, E.; FERNÁNDEZ-MARTÍNEZ, G.; LÓPEZ-MAHÍA, P.; PRADA-RODRÍGUEZ, D.; MUNIATEGUI-LORENZO, S. Fast and sensitive determination of per- and polyfluoroalkyl substances in seawater. *Journal of Chromatography A*, [s. l.], v. 1555, p. 62–73, 2018.

DOMINGO, J. L.; NADAL, M. Human exposure to per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS) through drinking water: A review of the recent scientific literature. *Environmental Research*, [s. l.], v. 177, n. July, 2019.

ITRC, I. T. and R. C. PFAS Technical and Regulatory Guidance Document: Fact Sheets: PFAS Water and Soil Regulatory and Guidance Values Table Excel File. [S. l.: s. n.], 2023. Disponível em: https://pfas-1.itrcweb.org/#1_3. Acesso at: 8 Dec. 2023.

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

JOGPETHE, A.; JADAV, T.; RAJPUT, N.; SAHU, A. K.; TEKADE, R. K.; SENGUPTA, P. Critical strategies to pinpoint carryover problems in liquid chromatography-mass spectrometry: A systematic direction for their origin identification and mitigation. *Microchemical Journal*, [s. l.], v. 179, p. 107464, 2022.

KOURTCHEV, I.; SEBBEN, B. G.; BOGUSH, A.; GODOI, A. F. L.; GODOI, R. H. M. Per- and polyfluoroalkyl substances (PFASs) in urban PM_{2.5} samples from Curitiba, Brazil. *Atmospheric Environment*, [s. l.], v. 309, n. April, p. 119911, 2023.

LEONEL, J.; NASCIMENTO, R. A.; MIRANDA, D. de A. Revisão. *Química Nova*, [s. l.], v. XY, n. 00, p. 1–9, 2023.

LÖFSTEDT GILLJAM, J.; LEONEL, J.; COUSINS, I. T.; BENSKIN, J. P. Is Ongoing Sulfluramid Use in South America a Significant Source of Perfluorooctanesulfonate (PFOS)? Production Inventories, Environmental Fate, and Local Occurrence. *Environmental Science and Technology*, [s. l.], v. 50, n. 2, p. 653–659, 2016.

MADEIRA, C. L.; ACAYABA, R. D. A.; SANTOS, V. S.; VILLA, J. E. L.; JACINTO-HERNÁNDEZ, C.; AZEVEDO, J. A. T.; ELIAS, V. O.; MONTAGNER, C. C. Uncovering the impact of agricultural activities and urbanization on rivers from the Piracicaba, Capivari, and Jundiaí basin in São Paulo, Brazil: A survey of pesticides, hormones, pharmaceuticals, industrial chemicals, and PFAS. *Chemosphere*, [s. l.], v. 341, n. September, 2023.

MARTINS, M. L.; PRIMEL, E. G.; CALDAS, S. S.; PRESTES, O. D.; ADAIME, M. B.; ZANELLA, R. Microextração Líquido-Líquido Dispersiva (DLLME): Fundamentos e aplicações . Scientia Chromatographica, [s. l.], v. 4, n. 1, p. 29–45, 2012.

NASCIMENTO, R. A.; NUNOO, D. B. O.; BIZKARGUENAGA, E.; SCHULTES, L.; ZABALETA, I.; BENSKIN, J. P.; SPANÓ, S.; LEONEL, J. Sulfluramid use in Brazilian agriculture: A source of per- and polyfluoroalkyl substances (PFASs) to the environment. Environmental Pollution, [s. l.], v. 242, p. 1436–1443, 2018.

POZO, K.; MOREIRA, L. B.; KARASKOVA, P.; PŘIBYLOVÁ, P.; KLÁNOVÁ, J.; DE CARVALHO, M. U.; MARANHO, L. A.; DE SOUZA ABESSA, D. M. Using large amounts of firefighting foams releases per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS) into estuarine environments: A baseline study in Latin America. Marine Pollution Bulletin, [s. l.], v. 182, n. July, 2022.

QUINETE, N.; WU, Q.; ZHANG, T.; YUN, S. H.; MOREIRA, I.; KANNAN, K. Specific profiles of perfluorinated compounds in surface and drinking waters and accumulation in mussels, fish, and dolphins from southeastern Brazil. Chemosphere, [s. l.], v. 77, n. 6, p. 863–869, 2009.

RICKARD, B. P.; RIZVI, I.; FENTON, S. E. Per- and poly-fluoroalkyl substances (PFAS) and female reproductive outcomes: PFAS elimination, endocrine-mediated effects, and disease. Toxicology, [s. l.], v. 465, n. June 2021, p. 153031, 2022.

SCHWANZ, T. G.; LLORCA, M.; FARRÉ, M.; BARCELÓ, D. Perfluoroalkyl substances assessment in drinking waters from Brazil, France and Spain. Science of the Total Environment, [s. l.], v. 539, p. 143–152, 2016.

SHARMA, B. M.; BHARAT, G. K.; TAYAL, S.; LARSEN, T.; BEČANOVÁ, J.; KARÁSKOVÁ, P.; WHITEHEAD, P. G.; FUTTER, M. N.; BUTTERFIELD, D.; NIZZETTO, L. Perfluoroalkyl substances (PFAS) in river and ground/drinking water of the Ganges River basin: Emissions and implications for human exposure. Environmental Pollution, [s. l.], v. 208, p. 704–713, 2016.

SANEX. Construção da Estação de Tratamento de Esgotos do município de Gavião Peixoto/SP. Disponível em: <https://www.sanexsolucoes.com.br/cases/esgoto/tratamento-de-esgoto/estacao-de-tratamento-de-esgotos-municipal-de-gaviao-peixoto-sp/>. Acesso em 18 de julho de 2025.

SOUZA, M. C. O.; SARAIVA, M. C. P.; HONDA, M.; BARBIERI, M. A.; BETTIOL, H.; BARBOSA, F.; KANNAN, K. Exposure to per- and polyfluorinated alkyl

substances in pregnant Brazilian women and its association with fetal growth. *Environmental Research*, [s. l.], v. 187, n. April, p. 109585, 2020.

STEENLAND, K.; WINQUIST, A. PFAS and cancer, a scoping review of the epidemiologic evidence. *Environmental Research*, [s. l.], v. 194, n. December 2020, p. 110690, 2021.

STEFANO, P. H. P.; ROISENBERG, A.; D'ANNA ACAYABA, R.; ROQUE, A. P.; BANDORIA, D. R.; SOARES, A.; MONTAGNER, C. C. Occurrence and distribution of per-and polyfluoroalkyl substances (PFAS) in surface and groundwaters in an urbanized and agricultural area, Southern Brazil. *Environmental Science and Pollution Research*, [s. l.], v. 30, n. 3, p. 6159–6169, 2023.

TORRES, B. M. F.; GUIDA, Y.; WEBER, R.; MACHADO TORRES, J. P. Brazilian overview of per- and polyfluoroalkyl substances listed as persistent organic pollutants in the stockholm convention. *Chemosphere*, [s. l.], v. 291, n. June 2021, 2022.

USEPA. Method 537.1 Determination of Selected Per- and Polyfluorinated Alkyl Substances in Drinking Water by Solid Phase Extraction and Liquid Chromatography/Tandem Mass Spectrometry (LC/MS/MS). [S. l.: s. n.], 2020.

VELA-SORIA, F.; SERRANO-LÓPEZ, L.; GARCÍA-VILLANOVA, J.; DE HARO, T.; OLEA, N.; FREIRE, C. HPLC-MS/MS method for the determination of perfluoroalkyl substances in breast milk by combining salt-assisted and dispersive liquid-liquid microextraction. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, [s. l.], v. 412, n. 28, p. 7913–7923, 2020.

YAN, H.; WANG, H. Recent development and applications of dispersive liquid-liquid microextraction. *Journal of Chromatography A*, [s. l.], v. 1295, p. 1–15, 2013.

ZARĘBSKA, M.; BAJKACZ, S. Poly- and perfluoroalkyl substances (PFAS) - recent advances in the aquatic environment analysis. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, [s. l.], v. 163, 2023.