



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS FÍSICAS MATEMÁTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

Diogo Cherem Morelli

**SOLVENTES EUTÉTICOS PROFUNDOS E MICROEXTRAÇÃO LÍQUIDO-LÍQUIDO
EM MEMBRANA MICROPOROSA POR FIBRA OCA: UMA ALTERNATIVA VERDE
E EFICIENTE PARA A DETERMINAÇÃO DE CONTAMINANTES EMERGENTES**

Florianópolis

2023

Diogo Cherem Morelli

**SOLVENTES EUTÉTICOS PROFUNDOS E MICROEXTRAÇÃO LÍQUIDO-LÍQUIDO
EM MEMBRANA MICROPOROSA POR FIBRA OCA: UMA ALTERNATIVA VERDE
E EFICIENTE PARA A DETERMINAÇÃO DE CONTAMINANTES EMERGENTES**

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação
em Química da Universidade Federal de Santa Catarina
como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor
em Química.

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Carasek da Rocha

Florianópolis

2023

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Morelli, Diogo Cherem

Solventes eutéticos profundos e microextração líquido líquido em membrana microporosa por fibra oca: uma alternativa verde e eficiente para a determinação de contaminantes emergentes. / Diogo Cherem Morelli ; orientador, Eduardo Carasek da Rocha, 2023.

112 p.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Físicas e Matemáticas, Programa de Pós-Graduação em Química, Florianópolis, 2023.

Inclui referências.

1. Química. 2. solventes eutéticos profundos. 3. microextração. 4. contaminantes emergentes. 5. química verde. I. Rocha, Eduardo Carasek da . II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Química. III. Título.

Diogo Cherem Morelli

**SOLVENTES EUTÉTICOS PROFUNDOS E MICROEXTRAÇÃO LÍQUIDO-LÍQUIDO
EM MEMBRANA MICROPOROSA POR FIBRA OCA: UMA ALTERNATIVA VERDE
E EFICIENTE PARA A DETERMINAÇÃO DE CONTAMINANTES EMERGENTES.**

O presente trabalho em nível de doutorado foi avaliado e aprovado em 29/03/2023 por banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof. Dr. Leandro Wang Hantao
Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP)

Prof.^a. Dr.^a Andréa Rodrigues Chaves
Universidade Federal de Goiás (UFG)

Prof. Dr. Eduardo Sidinei Chaves
Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC)

Certificamos que esta é a versão original e final do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para a obtenção do título de doutor em Química com especialização em Química Analítica.

Coordenação do Programa de Pós-Graduação

Prof. Dr. Eduardo Carasek da Rocha, orientador

Florianópolis, 2023

Dedico à vó Ely (in memoriam) e tia Zaza (in memoriam).

AGRADECIMENTOS

Aos meu pais, Gerson e Janara e, meus irmãos, Thiago e Pedro, pelo apoio incondicional durante toda minha trajetória acadêmica, por sempre estarem ao meu lado e sempre acreditarem em mim mesmo quando eu não acreditava. Amo vocês.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Eduardo Carasek, que mesmo tendo um grupo grande me aceitou como orientando e me deu o suporte necessário para eu evoluir como pesquisador e profissional.

Aos meus amigos Lucas Morés, Lucas Murara, Marina, Geovanna, Juliane, Beatriz, Paulo e Lucas Pradi pela amizade, as palavras de acolhimento, os cafés, os drinks e todos os momentos que tornaram o peso da pós-graduação mais leve.

A todos os colegas do laboratório Cromaas e da Pós-Graduação, pelos momentos compartilhados, pelo aprendizado e pelas colaborações. Agradecimento especial ao Gustavo que realizou todas as análises de DSC.

A todos os professores e servidores do Departamento de Química que foram a base de todo meu conhecimento e fizeram com que fosse possível a realização desse doutorado.

À UFSC e ao Programa de Pós-Graduação em química pelo espaço concedido e oportunidade e pelo ensino público e de qualidade.

Ao CNPq pela bolsa de estudos permitindo dedicação exclusiva ao Programa de Pós-Graduação em química.

*“Eu perdi o medo da chuva
Pra poder reencontrar
A metade dessa vida
Que não me deixaram usar”
(Liniker,2021)*

RESUMO

Esse trabalho apresenta a aplicação de solventes eutéticos profundos (DES) associada a técnica de microextração líquido-líquido em membrana microporosa por fibra oca (HF-LLMME) acoplado ao sistema *96-well plate* para a determinação de contaminantes emergentes em amostras de água e alimentos por HPLC-DAD. O uso de solventes verdes, como os DES, vem ocorrendo com maior frequência nas técnicas de microextração, porém, ainda sofrem uma limitação por serem geralmente atrelados a técnicas sem possibilidade de automação. Os DES são solventes formados a partir de dois componentes que podem ser de fontes naturais o que confere a eles uma de baixa toxicidade e biodegradabilidade a eles. Eles ainda possuem alta capacidade de solubilização de compostos orgânicos e inorgânicos tornando-os atrativos para aplicação como solventes extratores. Nesse trabalho, o primeiro estudo avaliou a aplicação dos DES na HF-LLMME para a determinação de metilparabeno, etilparabeno, propilparabeno, butilparabeno, bisfenol A, bisfenol F, 17- β -estradiol, etinilestradiol, triclocarban, 4-metilbenzilideno canfora e 2-etilhexil 4-(dimetilamino) benzoato em amostras de água. O método foi otimizado utilizando planejamentos uni e multivariados, e as melhores condições foram: a membrana de polipropileno foi cortada em fibras de 1 cm e impregnada com 400 μ L de um DES composto de timol:cânfora (1:1, fração molar) por 10 min. A membrana impregnada foi imersa em 1,5 mL de uma amostra aquosa pH 6 por 50 min para a extração dos analitos. Após, a membrana foi imersa nos poços de dessorção contendo 300 μ L de solvente de dessorção, uma mistura composta por acetona:metanol (3:1, v/v), por 15 min. Os limites de detecção (LOD) variaram de 0,3 a 6,1 μ g L⁻¹ e os limites de quantificação (LOQ) de 1 a 20 μ g L⁻¹. A recuperação relativa do método foi avaliada em água de córrego e de abastecimento, variando de 64% a 123%. Foram obtidas precisões intradia (n=3) entre 1,6% e 18,4% e intradia (n=9) entre 5,3% e 21,6%. O segundo estudo utilizou o mesmo formato do projeto anterior para a determinação de dibutilftalato, dietilftalato, benzilbutilftalato e dimetilftalato em amostras de águas saborizadas e gaseificadas. O método otimizado se deu impregnando a membrana com 400 μ L de um DES composto de ácido decanóico e ácido nonanóico (2:3, fração molar) por 10 min. A membrana impregnada foi imersa em 1,5 mL de uma amostra por 60 min para a extração dos analitos. Após, a membrana foi imersa nos poços de dessorção contendo 300 μ L de solvente de dessorção, uma mistura composta por acetonitrila:metanol (1:1, v/v), por 30 min. Os LOD variaram de 3,3 a 7,6 μ g L⁻¹ e para os LOQ de 10 a 25 μ g L⁻¹. A recuperação relativa do método foi avaliada em marcas diferentes e variaram de 82% a 113%. Foram obtidas precisões intradia (n=3) entre 2,2% e 18,6% e intradia (n=9) entre 8,8% e 18,8%. No terceiro e último estudo foram extraídos naproxeno e bezafibrato da água durante a formação *in situ* do DES. O método otimizado se deu impregnando a membrana com 400 μ L de ácido octanóico por 5 min. A membrana impregnada foi imersa em 1,5 mL de uma amostra a 40°C, pH 3 por 45 min para a extração dos analitos. Após, a membrana foi imersa nos poços de dessorção contendo 300 μ L de solvente de dessorção, uma mistura composta por acetonitrila: metanol (1:1, v/v), por 30 min. Os LOD foram 7,6 μ g L⁻¹ para ambos os analitos e LOQ 25 μ g L⁻¹. A recuperação relativa do método foi avaliada na Lagoa da Conceição e variaram de 71% a 102%. Foram obtidas precisões intradia (n=3) entre 0,7% e 7,9 % e intradia (n=9) entre 4,7% e 15,9%. Os princípios propostos pela química verde e o preparo de amostras verdes foram atingidos em diversos pontos das metodologias desenvolvidas e ainda demonstram o potencial de aplicação dos DES em técnicas de microextração com a possibilidade de automação.

Palavras-chave: deep eutectic solvents, contaminantes emergentes, microextração.

ABSTRACT

This work presents the application of deep eutectic solvents (DES) using hollow fiber-membrane microporous liquid-liquid extraction (HF-LLMME) coupled to the 96-well plate system for the determination of emerging contaminants in water and food samples by HPLC-DAD. The use of green solvents such as DES, has been occurring more frequently in microextraction techniques, however, they still suffer from a limitation because they are generally linked to techniques without the possibility of automation. DES are solvents formed from two components that can be from natural sources, which entails a possibility of low toxicity and biodegradability to them. They also have a high capacity for solubilizing organic and inorganic compounds, which makes them attractive for application as extractor solvents. The first study evaluated the application of DES in the HF-LLMME for the determination of methylparaben, ethylparaben, propylparaben, butylparaben, bisphenol A, bisphenol F, 17- β -estradiol, ethinylestradiol, triclocarban, 4-methylbenzylidene camphor, and 2-ethylhexyl 4-(dimethylamino)benzoate in water samples. The method was optimized using univariate and multivariate designs and the best conditions were: the polypropylene membrane was cut into 1 cm fibers and impregnated with 400 μ L of a DES composed of thymol:camphor (1:1, mole fraction) for 10 min. The impregnated membrane was immersed in 1.5 mL and an aqueous sample pH 6 for 50 min for analyte extraction. Afterwards, the membrane was immersed in desorption wells containing 300 μ L of desorption solvent, a mixture composed of acetone:methanol (3:1, v/v), for 15 min. The limits of detection (LOD) ranged from 0.3 to 6.1 μ g L⁻¹ and the limits of quantification (LOQ) 1 to 20 μ g L⁻¹. Relative recovery of the method evaluated in stream and tap water ranged from 64% to 123%. Intraday (n=3) precision between 1.6% and 18.4% and intraday (n=9) between 5.3% and 21.6% were obtained. The second study evaluated the same format for the determination of dibutylphthalate, diethylphthalate, benzylbutylphthalate and dimethylphthalate in carbonated flavored water samples. The optimized method was performed by impregnating the membrane with 400 μ L of a DES composed of decanoic acid and nonanoic acid (2:3, molar fraction) for 10 min. The impregnated membrane was immersed in 1.5 mL of a sample for 60 min for analyte extraction. Afterwards, the membrane was immersed in desorption wells containing 300 μ L of desorption solvent, a mixture composed of acetonitrile: methanol (1:1, v/v), for 30 min. The LOD's ranged from 3.3 to 7.6 μ g L⁻¹ and the LOQ's from 10 to 25 μ g L⁻¹. Relative recovery of the evaluated method on different brands ranged from 82% to 113%. Intraday (n=3) precision between 2.2% and 18.6% and intraday (n=9) between 8.8% and 18.8% were obtained. In the third and last study, naproxen and bezafibrate were evaluated by the in-situ formation of DES with the analytes in a water sample. The optimized method was performed by impregnating the membrane with 400 μ L of octanoic acid for 5 min. The impregnated membrane was immersed in 1.5 mL of a sample at 40°C, pH 3 for 45 min for analyte extraction. Afterwards, the membrane was immersed in desorption wells containing 300 μ L of desorption solvent, a mixture composed of acetonitrile:methanol (1:1, v/v), for 30 min. LOD's were 7.6 μ g L⁻¹ for both analytes and LOQ's 25 μ g L⁻¹. Relative recovery of the evaluated method in Lagoa da Conceição ranged from 71% to 102%. Intraday (n=3) precision between 0.7% and 7.9% and intraday (n=9) between 4.7% and 15.9% were obtained. The principles proposed by green chemistry and green sample preparation were achieved in several points of the developed methodologies and still demonstrate the potential application of DES in microextraction techniques with the possibility of automation.

Keywords: deep eutectic solvents, emerging contaminants, microextraction.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Diferentes configurações da HF-LPME. (A) Sistema de 3 fases; (B) Sistema de 2 fases.	25
Figura 2- (A) A configuração para HF-LPME com a membrana suportada, chamada de HF-MMLLE e (B) a configuração acoplada ao sistema 96-well plate.	27
Figura 3 (A) Braço mecânico do sistema semiautomático; (B) Pente; (C) Poços para a extração.	28
Figura 4 (A) Representação esquemática de um ponto eutético em um diagrama de fases de dois componentes. (B) Representação do diagrama de fases da mistura de cloreto de colina e ureia. (C) aspecto visual das diferentes proporções da mistura (fração molar de ChCl).	30
Figura 5 Exemplos de estrutura de doadores de ligações de hidrogênio (HBD) e receptores de ligações de hidrogênio (HBA), comumente utilizados na síntese de DES.	31
Figura 6 Possíveis constituintes de solventes eutéticos profundos naturais.	33
Figura 7 Ângulo de contato dos DES com a superfície de teflon. Água e ácido oléico tomados como referência.	45
Figura 8 Ângulo de contato da água (A) ácido oleico (B) DES C10:C9 (2:3) (C) com a superfície de teflon.	46
Figura 9 Comparação dos espectros de infravermelho dos componentes individuais e do DES de timol e cânfora.	47
Figura 10 Comparação da eficiência de extração dos DES. Condições fixadas: Extração: 1,5 mL de UPW, fortificado a 500 ppb e 1 hora de extração. Dessorção: 300 µL de ACN:MeOH (1:1) e 30 minutos	55
Figura 11 Mudança no aspecto visual da membrana ao entrar em contato com diferentes solventes durante o processo de extração (a) membrana pura, (b) após impregnada ao DES e (c) após dessorvida em acetona:metanol.	56
Figura 12 Superfície de resposta da otimização para o solvente de dessorção. Condições fixadas: Extração: 1,5 mL de UPW, fortificado a 300ppb e 1 hora de extração. Dessorção: 30 minutos e 300 µL do solvente.	57
Figura 13 Otimização do tempo de dessorção para o procedimento proposto. Condições fixadas: Extração- 1,5 mL de UPW, fortificado a 300ppb e 1 hora. Dessorção- 300 µL de ACE:MeOH (3:1).	58
Figura 14 Gráficos de predição e desejabilidade para os parâmetros de extração tempo (40-80 min), pH (4-8) e porcentagem de sal (5-15%). Condições fixadas: Extração- 1,5 mL de UPW, fortificado a 300ppb. Dessorção- 300 µL de ACE:MeOH (3:1) e 15 min.	59
Figura 15 Gráfico de Pareto para o tempo e pH da extração. Condições fixadas: Extração- 1,5 mL de UPW, fortificado a 300ppb. Dessorção- 300 µL de ACE:MeOH (3:1).	60

Figura 16 Comparação da eficiência de extração dos DES de ácidos graxos. Condições fixadas: 1,5 mL de amostra fortificada em 500 $\mu\text{g L}^{-1}$; 1 hora de extração; dessorvido em 300 μL de ACN:MeOH.	70
Figura 17 Cromatograma comparativo entre injeção direta dos padrões, extração (500 $\mu\text{g L}^{-1}$) e o branco da matriz utilizada.	71
Figura 18 Comparação da eficiência de extração das diferentes proporções do DES composto de ácido nonanóico e decanóico. Condições fixadas: 1,5 mL de amostra fortificada em 500 $\mu\text{g L}^{-1}$; 1 hora de extração; dessorvido por 30 min em 300 μL de ACN:MeOH.....	72
Figura 19 Superfície ternária para a dessorção dos ftalatos. Condições fixadas: 1,5mL de amostra fortificada 200 g L^{-1} ; 1 hora de extração e 30 min de dessorção.....	73
Figura 20 Gráfico de barras para o tempo de dessorção. Condições fixadas: 1,5mL de amostra fortificada 200 g L^{-1} ; 1 hora de extração e dessorvido em 300 μL de ACN:MeOH (1:1).	74
Figura 21 Gráfico de barras para o tempo de extração. Condições fixadas: 1,5mL de amostra fortificada 200 g L^{-1} ; 1 hora de extração; dessorvido por 30 min em 300 μL de ACN:MeOH (1:1).....	75
Figura 22 Gráfico relativo à temperatura do 96-well plate automático ao decorrer do tempo de 60 min.....	82
Figura 23 Gráfico de barras para a determinação do composto utilizado para a formação do DES com os analitos. Condições fixadas: 1,5 mL de amostra fortificada em 200 $\mu\text{g L}^{-1}$. Pré-aquecimento da amostra à 40 °C e ajuste do pH3 com tampão acetato. Extraído por 60 min à 80°C e dessorvido em 300 μL de ACN:MeOH (1:1) por 30 min.	84
Figura 24 Superfície ternária obtida para a dessorção do bezafibrato e naproxeno. Condições fixadas: 1,5 mL de amostra fortificada em 200 $\mu\text{g L}^{-1}$. Pré-aquecimento da amostra à 40 °C e ajuste do pH3 com tampão acetato. Extraído por 60 min à 80°C e dessorvido em 300 μL por 30 min.....	85
Figura 25 Tempo de dessorção para a determinação dos fármacos. Condições fixadas: 1,5 mL de amostra fortificada em 200 $\mu\text{g L}^{-1}$. Pré-aquecimento da amostra à 40 °C e ajuste do pH3 com tampão acetato. Extraído por 60 min à 80°C e dessorvido em 300 μL de ACN:MeOH (1:1).	86
Figura 26 Gráfico de Pareto para os parâmetros de extração: sal e tempo de extração. Condições fixadas: 1,5 mL de amostra fortificada em 200 $\mu\text{g L}^{-1}$. Pré-aquecimento da amostra à 40 °C e ajuste do pH3 com tampão acetato. Extraído à 80°C e dessorvido em 300 μL de ACN:MeOH (1:1) por 30 min.	87
Figura 27 Tempo de extração no 96-well plate automático. Condições fixadas: 1,5 mL de amostra fortificada em 200 $\mu\text{g L}^{-1}$. Pré-aquecimento da amostra à 40 °C e ajuste do pH 3 com tampão acetato. Extraído min à 80°C e dessorvido em 300 μL de ACN:MeOH (1:1) por 30 min.....	88
Figura 28 Gráfico de barras para temperatura de extração e formação in-situ do DES. Condições fixadas: 1,5 mL de amostra fortificada em 200 $\mu\text{g L}^{-1}$. Pré-aquecimento da amostra à 40 °C e ajuste do pH 3 com tampão acetato. Extraído por 60 min e dessorvido em 300 μL de ACN:MeOH (1:1) por 30 min..	89

Figura 29 Espectro de infravermelho para verificar a formação do DES entre o ácido octanóico, naproxeno e bezafibrato. 91

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Densidade, viscosidade e temperatura de fusão dos componentes de alguns DES.....	32
Tabela 2 Aplicação de solventes eutéticos profundos em técnicas de microextração nos últimos anos.....	35
Tabela 3 Lista de solventes preparados para aplicação nas metodologias desenvolvidas.	43
Tabela 4 Temperatura de fusão dos componentes separados e na mistura eutética. Valores obtidos pela técnica de calorimetria diferencial de varredura.	45
Tabela 5 Analitos utilizados para o desenvolvimento da metodologia, suas estruturas, log P e pKa.	49
Tabela 6 Tempo de retenção e comprimento de onda utilizado para a identificação dos analitos utilizados no primeiro projeto.	51
Tabela 7 Proporções volumétricas utilizadas no planejamento simplex-centróide para a otimização do melhor solvente de dessorção.	52
Tabela 8 Planejamento fatorial 2 ³ utilizado na otimização dos parâmetros de extração.....	53
Tabela 9 Planejamento Doehlert utilizado para a otimização do tempo e pH de extração.	53
Tabela 10 Faixa linear, limite de detecção, limite de quantificação, e coeficiente de determinação para cada analito.....	61
Tabela 11 Precisão interdia e intradia e recuperação relativa para os analitos os contaminantes emergentes em amostras de água.	62
Tabela 12 Comparação das metodologias apresentadas na literatura e a metodologia proposta para determinação de contaminantes emergentes em água.	64
Tabela 13 Estruturas e Log Kow dos ftalatos analisados no segundo projeto.	67
Tabela 14 Proporções volumétricas utilizadas no planejamento simplex-centróide para a otimização do melhor solvente de dessorção para os ftalatos	69
Tabela 15 Parâmetros analíticos de mérito da metodologia desenvolvida para a determinação de ftalatos.	76
Tabela 16 Valores de precisão intradia, interdia e recuperação relativa da metodologia desenvolvida para determinação de ftalatos.	76
Tabela 17 Análise de diferentes marcas e sabores para a presença de ftalatos em bebidas saborizadas gaseificadas.....	77
Tabela 18 Tabela comparativa de diferentes metodologias para análise de ftalatos em bebidas	78
Tabela 19 Estrutura, Log P e pKa para os analitos naproxeno e bezafibrato.....	81
Tabela 20 Faixa linear, limite de quantificação e detecção, equação da reta e coeficiente de determinação das curvas obtidas para o bezafibrato e o naproxeno.....	89
Tabela 21 Valores de precisão intradia, interdia e recuperação relativa da metodologia desenvolvida para bezafibrato e naproxeno.	90
Tabela 22 Comparação entre metodologias para a determinação de fármacos já publicadas na literatura.	93

LISTA DE ABREVIACÕES E SIGLAS

17-BE	17- β -estradiol
4-MBC	4-Metilbenzilideno cânfora
ACE	Acetona
ACN	Acetonitrila
API	Ingrediente farmacêutico ativo (do inglês, <i>active pharmaceutical ingredient</i>)
BBP	Benzilbutilftalato
BPA	Bisfenol A
BPF	Bisfenol F
BTEX	Benzeno, Tolueno, Etilbenzeno e Xilenos
BuP	Butilparabeno
CE	Contaminantes emergentes
ChCl	Cloreto de Colina
DBP	Dibutilftalato
DEHP	Di-2-Etilhexilftalato
DEP	Dietilftalato
DES	Solventes eutéticos profundos (do inglês <i>Deep eutectic solvent</i>)
DLLME	Microextração líquido-líquido dispersiva (do inglês <i>Dispersive liquid-liquid microextraction</i>)
DMP	Dimetilftalato
DSC	Calorimetria diferencial de varredura (do inglês <i>Differential scanning calorimetry</i>)
EE2	Etinilestradiol
EtP	Etilparabeno
FTIR	Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (do inglês <i>Fourier transformed infrared</i>)
GC-FID	Cromatografia gasosa com detector de ionização em chamas (do inglês <i>Gas chromatography with flame ionization detection</i>)
GC-MS	Cromatografia gasosa com espectrometria de massas (do inglês <i>Gas chromatography with mass spectrometry</i>)
HBA	Receptor de ligação de hidrogênio (do inglês <i>Hydrogen bond acceptor</i>)
HBD	Doador de ligação de hidrogênio (do inglês <i>Hydrogen bond donor</i>)
HF-LPME	Microextração em fase líquida suportada por fibra oca (do inglês <i>Hollow fiber-liquid phase microextraction</i>)
HF-MMLLE	Extração líquido-líquido em membrana microporosa com fibra oca (do inglês <i>Hollow fiber-membrane microporous liquid-liquid extraction</i>).
HPLC-DAD	Cromatografia líquida de alta eficiência com detector por arranjo de diodos (do inglês <i>High-performance liquid chromatography with diode array detection</i>)
LLE	Extração líquido-líquido (do inglês <i>Liquid-liquid extraction</i>)
LLME	Microextração líquido-líquido (do inglês <i>Liquid-liquid microextraction</i>)
LOD	Limite de detecção (do inglês <i>Limit of detection</i>)
LOQ	Limite de quantificação (do inglês <i>Limit of quantification</i>)
LPME	Microextração em fase líquida (do inglês <i>Liquid phase microextraction</i>)
MBME	Microextração baseada em membrana (do inglês <i>Membrane based microextraction</i>)
MeOH	Metanol
MeP	Metilparabeno
NADES	Solvente eutéticos profundo natural (do inglês <i>Natural deep eutectic solvent</i>)
NIAS	Substâncias adicionadas não intencionalmente (do inglês <i>Non intentionally added substances</i>)

OD-PABA	2-Etilhexil 4-(dimetilamino) benzoato
PrP	Propilparabeno
QAV	Química analítica verde
RSD	Desvio padrão relativo (do inglês <i>Relative standard deviation</i>)
SDME	Microextração em gota única (do inglês <i>Single drop microextraction</i>)
SPE	Extração em fase sólida (do inglês <i>Solid-phase extraction</i>)
SPME	Microextração em fase sólida (do inglês <i>Solid-phase microextraction</i>)
TCC	Triclocarban
TFME	Microextração em filme fino (do inglês <i>Thin film microextraction</i>)
THEDES	Solventes eutéticos profundos terapêuticos (do inglês <i>therapeutic deep eutectic solvents</i>)
UPW	Água ultrapura (do inglês <i>Ultrapure water</i>)

SUMÁRIO

CAPÍTULO I – INTRODUÇÃO	19
CAPÍTULO II - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	21
2.1 CONTAMINANTES EMERGENTES	21
2.2 PREPARO DE AMOSTRA	22
2.2.1 Técnicas de Microextração	23
2.3 SOLVENTES EUTÉTICOS PROFUNDOS	28
2.3.1 Solventes eutéticos profundos naturais	32
2.3.2 Solventes eutéticos profundos terapêuticos	33
2.3.3 Aplicação dos solventes eutéticos profundos em técnicas de preparo de amostra	33
CAPÍTULO III - OBJETIVOS	41
3.1 OBJETIVO GERAL	41
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	41
CAPÍTULO IV - PREPARO E CARACTERIZAÇÃO DOS DES	42
4.1 INTRODUÇÃO	42
4.2 MATERIAIS E MÉTODOS	42
4.2.1 Métodos	42
4.2.2 Instrumentos	44
4.3 RESULTADOS	44
4.3.1 Calorimetria Diferencial de Varredura	44
4.3.2 Ângulo de contato da gota	45
4.3.3 Infravermelho	46
CAPÍTULO V- DES APLICADO À MICROEXTRAÇÃO EM FIBRA OCA PARA A DETERMINAÇÃO DE CONTAMINANTES EMERGENTES EM AMOSTRAS DE ÁGUA.	47
5.1 INTRODUÇÃO	48
5.2 MATERIAIS E MÉTODOS	50
5.2.1 Materiais	50
5.2.2 Instrumentos	50
5.2.3 Procedimentos	51
5.2.4 Metodologia	51
5.3 RESULTADOS E DISCUSSÕES	54
5.3.1 Comparação da eficiência de extração	54
5.3.2 Otimizações	56

5.3.3 Parâmetros analíticos de mérito.....	60
5.3.4 Comparação com metodologias já publicadas na literatura	63
5.4 CONCLUSÕES PARCIAIS.....	64
CAPÍTULO VI - DETERMINAÇÃO DE FTALATOS EM ÁGUAS SABORIZADAS GASEIFICADAS UTILIZANDO DES BASEADO EM ÁCIDOS GRAXOS.....	
6.1 INTRODUÇÃO.....	66
6.2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	67
6.2.1 Materiais.....	67
6.2.2 Instrumentos	68
6.2.3 Metodologia.....	68
6.3 RESULTADOS	69
6.3.1 Escolha do solvente de extração	69
6.3.2 Otimização dos parâmetros da metodologia	72
6.3.3 Parâmetros analíticos de mérito.....	75
6.3.4 Análise de amostras.....	76
6.3.5 Comparação com trabalhos já publicados na literatura	77
6.4 CONCLUSÕES PARCIAIS.....	78
CAPÍTULO VII - FORMAÇÃO <i>IN SITU</i> DE DES PARA A DETERMINAÇÃO DE NAPROXENO E BEZAFIBRATO EM AMOSTRAS DE ÁGUA.....	
7.1 INTRODUÇÃO.....	80
7.2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	81
7.2.1 Materiais.....	81
7.2.2 Instrumentos	81
7.2.3 Procedimentos.....	82
7.2.4 Metodologia.....	82
7.3 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	84
7.3.1 Triagem dos compostos.....	84
7.3.2 Parâmetros de dessorção	85
7.3.3 Parâmetros de extração	86
7.3.4 Parâmetros analíticos de mérito.....	89
7.3.5 Verificação da formação do DES	91
7.3.6 Comparação com trabalhos já publicados na literatura	92
7.4 CONCLUSÕES PARCIAIS.....	93
CAPÍTULO VIII - CONCLUSÃO	95

CAPÍTULO I – INTRODUÇÃO

Durante alguns anos, o desenvolvimento de metodologias analíticas teve como prioridade apenas o desempenho analítico e o objetivo era conseguir adequadas sensibilidade, seletividade, precisão etc. Todos os esforços eram justificáveis se ao final conseguissem diminuir limites de detecção e quantificação de partes por milhão para partes por bilhão, muitas vezes de um único analito. O modo como se alcançava esses resultados e as características dos métodos eram consideradas apenas aspectos práticos. Com o desenvolvimento da química verde, e consequentemente da química analítica verde, o modo em como os resultados eram obtidos passou a ter tanta importância quanto os resultados. O uso de litros de solventes e a geração de uma grande quantidade de resíduos para a determinação de um único analito não é mais justificável.

A etapa da análise química mais afetada por essas mudanças é o preparo de amostras. As buscas por metodologias de preparo de amostra que utilizem quantidades reduzidas de amostra, que sejam aplicados a diversos analitos, integrem diversas etapas em uma só, consumam menos reagentes, gerem menos resíduos, eliminem reagentes tóxicos e aumentem a segurança do analista são temas de diversas pesquisas na comunidade científica.

O desenvolvimento dessas metodologias que se adequem aos princípios da química analítica verde se torna possível devido ao uso de técnicas de microextração que trazem a possibilidade de miniaturização e automação dos sistemas. As técnicas de microextração reduzem ou permitem eliminar a necessidade do uso de solventes orgânicos tóxicos.

A busca e aplicação de solventes considerados “verdes” se alinham juntamente com as técnicas de microextração como alternativas de se atingirem as metas determinadas pela química verde. Os solventes eutéticos profundos (do inglês *deep eutectic solvents*, DES) surgiram como uma classe desses solventes. Eles podem ser constituídos de diversas moléculas de origem natural, e ao que tudo indica são biodegradáveis e não tóxicos devido à natureza dos seus componentes. A aplicação dos DES as técnicas de microextração vêm crescendo, porém, a maioria dessas aplicações se limita a técnicas de microextração líquido-líquido e líquido-líquido dispersiva que limitam a possibilidade de automação. O uso, por exemplo, da extração líquido-líquido em membrana microporosa suportada por fibra oca (HF-MMLLE) acoplada ao sistema 96 poços de amostragem (do inglês *96-well-plate*, 96WP) possibilitaria a automação dos procedimentos referentes ao processo de preparo de amostra.

Esse trabalho tem como objetivo explorar a utilização dos DES associados às técnicas de microextração para desenvolver metodologias analíticas inovadoras e de alta frequência que se

apliquem a matrizes ambientais e alimentícias e demonstrar o potencial de aplicação dos DES na química analítica.

CAPÍTULO II - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 CONTAMINANTES EMERGENTES

Devido a necessidade de uma alta qualidade de vida e exigência dos consumidores, um enorme problema ambiental surgiu. Um grande número de substâncias sintéticas se tornaram indispensáveis para a sociedade atual ao redor do mundo. A indústria farmacêutica, antibióticos, pesticidas, surfactantes, retardadores de chama, indústria de fertilizantes, adoçantes artificiais, hormônios, compostos perfluorados, drogas ilícitas, adesivos para roupas, solventes para limpeza, antibacterianos, pomadas, espuma para almofadas, cosméticos, produtos de beleza, protetores solares, produtos de higiene pessoal, bebidas e alimentos embalados são as principais fontes dessas substâncias que são consideradas contaminantes emergentes (KHAN et al., 2022).

Os contaminantes emergentes (CE) fazem parte de um grande grupo de substâncias que chamaram a atenção da comunidade científica nas últimas décadas. Elas não necessariamente são emergentes por serem novas, algumas delas já são de uso difundido, porém novos estudos fizeram com que houvesse uma preocupação em torno do que essas substâncias pudessem causar ao meio ambiente e aos seres humanos. Embora já tenham sido detectados em diversos ecossistemas, eles, de maneira geral, não são monitorados regularmente. (CHEN; LIN; ZHUANG, 2022; MACKEOWN et al., 2022).

No meio ambiente, devido a estabilidade química desses compostos, eles estão suscetíveis a bioacumulação que acontece através da ingestão ou absorção. A bioacumulação acontece diretamente na base da cadeia alimentar, nos produtores ou consumidores primários, podendo causar mutações, alterações no sistema imune, mudança no comportamento e feminização de espécies aquáticas, acarretando a longo prazo na extinção de determinadas espécies, causando um desequilíbrio nos ecossistemas (SAIDULU et al., 2021; VARSHA; SENTHIL KUMAR; SENTHIL RATHI, 2022).

Por serem emergentes tanto os compostos quanto os possíveis problemas causados, ainda é difícil prever o que esses compostos podem causar à exposição a longo prazo aos humanos, porém, diversos estudos conectam CE a problemas em seres vivos. O Diuron, um herbicida, já foi relacionado a retardo no desenvolvimento e anemia em ratos e cachorros. A benzofenona, usada em protetores solares, foi indicada com um disruptor endócrino podendo afetar o sistema endócrino humano. A carbamazepina, um anticonvulsante utilizado no tratamento para epilepsia, impede o crescimento de células tronco embrionárias. Já são encontrados na literatura diversos artigos relacionados aos riscos que esses e outros CE causam a saúde humana (CORCORAN et al., 2012; DE JESUS GAFFNEY et al., 2015; BRAUSCH; RAND, 2011; MIÈGE

et al., 2009; DE JESUS GAFFNEY et al., 2015; TRAN et al., 2014; LEI et al., 2015; PARIDA et al., 2021).

As plantas de tratamento de água e esgoto convencional não são desenhadas para o tratamento desses compostos, apenas para a purificação parcial dos resíduos (redução da demanda bioquímica de oxigênio, patógenos, compostos fosforados e nitrogenado), sendo assim, esses contaminantes são eventualmente despejados continuamente nas águas superficiais resultando na contaminação dos corpos d'água. As concentrações dos CE no esgoto, águas superficiais e água potável tendem a ser baixas normalmente em micro- ou nano- grama por litro (CHEN; LIN; ZHUANG, 2022; MOHAPATRA; KIRPALANI, 2019; TAHERAN et al., 2018). O fato desses compostos geralmente se encontrarem em uma matriz complexa, como as matrizes ambientais e alimentícias, e em níveis baixos, se faz necessário o uso de técnicas de preparo de amostras para a detecção e quantificação desses compostos.

2.2 PREPARO DE AMOSTRA

Se tratando do processo analítico, uma análise direta, sem preparo de amostras, seria o objetivo ideal. Entretanto, a maioria das análises, devido à complexidade da matriz, faz do preparo de amostras uma etapa inevitável. O conceito básico do preparo de amostras é converter a matriz numa amostra adequada ao instrumento de análise. Dentre os objetivos estão: a remoção de possíveis interferentes, assim aumentando a seletividade do método; aumentar a concentração do analito de interesse, consequentemente, aumentando a sensibilidade; e prover um método robusto e reprodutível independente de variações na matriz (ARMENTA et al., 2019; SMITH, 2003).

O preparo de amostras é a etapa no processo analítico que consome mais tempo, em contraponto ela é a etapa mais crucial do processo. Dentro dele temos diversas etapas como amostragem, homogeneização, extração, limpeza e concentração dos analitos. Por apresentar diversas etapas, é onde surgem as maiores possibilidade de erros durante o processo (VIAN et al., 2017).

As técnicas de preparo de amostras clássicas são bem difundidas e utilizadas até hoje. Podem ser citadas as técnicas de extração sólido-líquido (Ex. Soxhlet), extração líquido-líquido (LLE, do inglês *liquid-liquid extraction*) e extração em fase sólida (SPE, do inglês *Solid-phase extraction*). Essas técnicas geralmente são demoradas, laboriosas e utilizam grandes volumes de solventes orgânicos, que são caros e geram uma quantidade grande de resíduos (CARASEK et al., 2019).

Com o surgimento da química verde (QV) nos anos 1990 e subsequente, da química analítica verde (QAV), processos laborais que gerem muitos resíduos e com solventes tóxicos se

tornaram opostos aos princípios pregados por esses movimentos. Mais recentemente, López-Lorente *et al.* 2022, propuseram o que seriam os 10 princípios do preparo de amostra verde. Os princípios já conhecidos da QV e QAV foram ressignificados fazendo com que fosse possível promover esses novos princípios no preparo de amostra. Abaixo são listados os 10 princípios do preparo de amostras verde, resumidamente (LÓPEZ-LORENTE *et al.*, 2022).

- 1) Favorecer o preparo de amostras *in situ*;
- 2) Usar solventes e reagentes mais seguros;
- 3) Visar materiais sustentáveis, renováveis e reutilizáveis;
- 4) Minimizar resíduos;
- 5) Minimizar a quantidade de amostra, produtos químicos e materiais;
- 6) Maximizar o rendimento da amostra;
- 7) Integrar etapas e promover automação;
- 8) Minimizar o consumo de energia;
- 9) Escolher o método de análise mais verde após o preparo de amostra;
- 10) Garantir procedimentos mais seguros para o operador.

Existem diversas maneiras de integrar esses princípios aos processos já usuais de uma análise. O uso de técnicas de microextração, por exemplo, engloba diversos desses princípios. A substituição dos solventes tóxicos, geralmente utilizados na etapa de extração, por solventes considerados “verdes” faz com que grande parte do processo se torne mais ambientalmente amigável.

Diversas métricas já são encontradas na literatura para a quantificação de quão “verde” é uma metodologia analítica. Elas levam em consideração equipamento usados, reagentes, quantidades, risco ao operador entre outros fatores. Devido a utilizarem parâmetros diferentes ainda é difícil comparar as metodologias entre si. Pena-Pereira *et al.* 2022, desenvolveram um software gratuito, AGREEprep (do inglês “*Analytical Greenness Metric for Sample Preparation*”), para a determinação métrica do verdor de um processo de preparo de amostra. O software determina uma nota para cada critério avaliado, cada critério com um peso diferente na nota final. Essa nota varia de 0 a 1, onde 1 representa o melhor processo. O programa também indica em quais critérios o preparo de amostra está adequado e qual precisaria melhorar. (PENA-PEREIRA *et al.*, 2022; SAJID; PŁOTKA-WASYLKA, 2022).

2.2.1 Técnicas de Microextração

Uma grande ferramenta para atingir os princípios descritos pelas QV são as técnicas de microextração. Elas trouxeram a possibilidade de miniaturização, automação e simples configurações sem comprometimento da eficiência das extrações. O uso de técnicas de

microextração reduzem o número de erros passíveis de métodos com muitas etapas e limita o impacto negativo sobre o meio ambiente e o analista. A redução/eliminação do uso de solventes orgânicos durante o preparo de amostras e a redução da quantidade de amostra necessária, diminui o custo dos procedimentos analíticos pois reduz a utilização de solventes de alto grau de pureza e o tratamento dos resíduos utilizados (NENG; SILVA; NOGUEIRA, 2010; SPIETELUN et al., 2013).

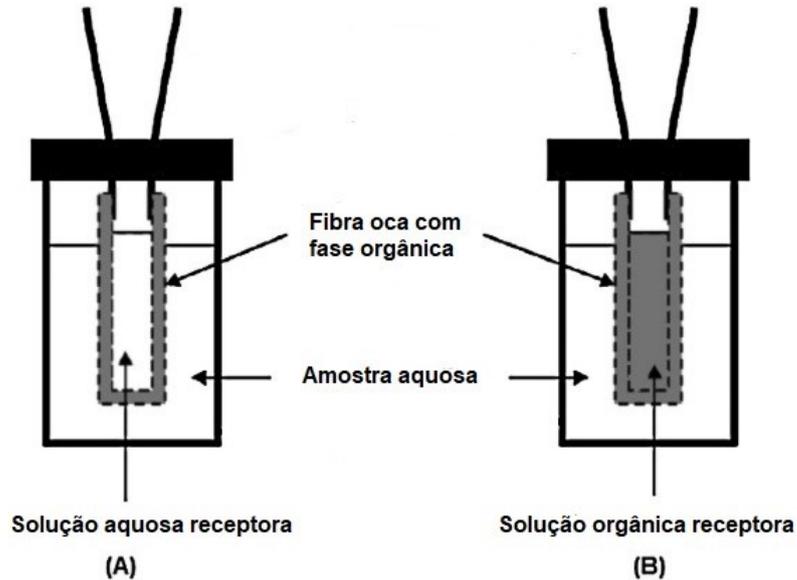
As técnicas de microextração podem ser divididas em microextração em fase sólida e líquida. A microextração em fase sólida (SPME, do inglês *solid-phase microextracion*) foi descrita pela primeira vez em 1990 por Pawliszyn e Arthur e se destacou por ser uma técnica livre de solventes. O dispositivo de extração descrito, consiste em uma fibra de sílica fundida revestida com poliamida posicionada dentro de uma seringa, essa, inserida diretamente no injetor do cromatógrafo. As vantagens da SPME são: simplicidade de operação, versatilidade, custo relativamente baixo, eliminação completa de solventes orgânicos, possibilidade de coletar amostras *in situ*, possibilidade de automação e dessorção direta dos analitos da fibra no instrumento de análise (ARTHUR; PAWLISZYN, 1990; ZHANG; YANG; PAWLISZYN, 1994).

A microextração em fase líquida (LPME, do inglês *liquid-phase microextraction*) surgiu como uma maneira de superar algumas limitações da SPME. A temperatura operacional, instabilidade perante a solventes orgânicos, a quebra de fibras e decapagem de alguns revestimentos são alguns dos problemas que a LPME tenta resolver. Na LPME a extração ocorre normalmente numa pequena quantidade de solvente (fase receptora) de uma amostra aquosa contendo os analitos (fase doadora). Podemos dividir a LPME em três categorias: microextração em gota única (SDME, do inglês *single drop microextraction*), microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME, do inglês *dispersive liquid-liquid microextraction*) e microextração em fase líquida suportada por fibra oca (HF-LPME, do inglês *hollow fiber liquid phase microextrcation*) (SARAFRAZ-YAZDI; AMIRI, 2010).

2.2.1.1 Microextração em fase líquida suportada for fibra oca

O uso de membranas em técnicas de microextração em fase líquida surgiu da necessidade de tornar a gota da SDME mais estável. Pela técnica ser constituída apenas de uma gota suspensa por uma microseringa, ela se torna muito instável e suscetível a erros. O uso de membranas tornou possível a imobilização da fase líquida extratora, facilitando o processo de extração. As técnicas de microextração em fase líquida suportada por fibra oca (HF-LPME) podem ser classificadas pelo número de fases utilizadas na extração (Figura 1) (LIU; DASGUPTA, 1996).

Figura 1 Diferentes configurações da HF-LPME. (A) Sistema de 3 fases; (B) Sistema de 2 fases.



Fonte: Adaptado de Lee *et al.* 2008

Na Figura 1A podemos ver a configuração em 3 fases. Uma solução orgânica, mantida nos poros da membrana por forças capilares, extrai os analitos de uma solução aquosa e esses analitos extraídos sofrem uma segunda extração pela solução aquosa (fase receptora) que fica no interior da membrana, o lúmen. Essa configuração foi demonstrada pela primeira vez por Pedersen-Bjergaard e Rasmussen em 1999 e foi primeiro denominada de microextração líquido-líquido-líquido, porém com o passar dos anos e o desenvolvimento da técnica ela passou a ser conhecida com HF (3) -LPME. A HF-LPME em 3 fases é muito usada quando existe a possibilidade de ionização dos analitos, por isso o pH das fases aquosas é um fator a ser considerado. Na amostra, os analitos tem que estar na forma neutra para que a fase orgânica consiga realizar a extração. A solução dentro do lúmen tem uma variação no pH para que os analitos se ionizem e fiquem na solução do lúmen, não voltando para a fase orgânica e conseqüentemente para a amostra (CARASEK; MERIB, 2015; KHAN *et al.*, 2020; PEDERSEN-BJERGAARD; RASMUSSEN, 1999).

A relação de equilíbrio entre as fases pode ser representada pela equação 1, que demonstra um equilíbrio da concentração do analito entre a amostra, fase orgânica e fase receptora.

$$A(\text{amostra}) \rightleftharpoons A(\text{fase orgânica}) \rightleftharpoons A(\text{fase receptora}) \quad (1)$$

O processo de extração é afetado pelo coeficiente de partição entre a amostra e a fase orgânica ($K_{org/amostra}$) e o coeficiente de partição entre a fase orgânica e a fase receptora ($K_{recep/org}$) como visto nas equações 2 e 3, respectivamente. Onde $C_{eq.org}$ é a concentração no equilíbrio do analito na fase orgânica, $C_{eq.amostra}$ é a concentração no equilíbrio do analito na amostra e $C_{eq.recep}$ é a concentração no equilíbrio do analito na solução receptora.

$$K_{org/amostra} = \frac{C_{eq.org}}{C_{eq.amostra}} \quad (2)$$

$$K_{recep/org} = \frac{C_{eq.recep}}{C_{eq.org}} \quad (3)$$

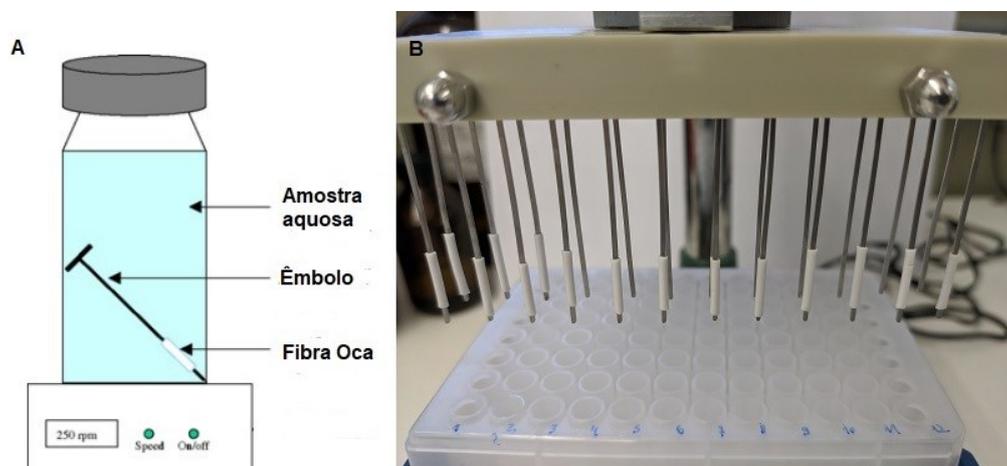
O coeficiente de partição entre a fase receptora e a amostra ($K_{recep/amostra}$) pode ser calculado como produto de $K_{org/amostra}$ e $K_{recep/org}$ como demonstrado na equação 4 (CARASEK; MERIB, 2015).

$$K_{recep/amostra} = \frac{C_{eq.recep}}{C_{eq.amostra}} = K_{org/amostra} \times K_{recep/org} \quad (4)$$

A HF-LPME em duas fases (HF(2)-LPME), representada na Figura 1B, traz a vantagem de ter no lúmen, que será usada na análise, a fase orgânica, fazendo com que seu uso em cromatografia gasosa seja muito difundido atualmente. Por ter como destino dos analitos uma fase orgânica, geralmente é usada para extração de analitos de baixa polaridade e/ou neutros. Na HF(2)-LPME o solvente orgânico utilizado nos poros da membrana é o mesmo que é utilizado no lúmen da membrana, sendo possível a retirada da fase orgânica pelo mesmo com uma microseringa. O equilíbrio que rege a técnica é dependente do coeficiente de partição entre a fase orgânica e a amostra e pode ser apresentada pela equação 1 sem a fase receptora (LEE et al., 2008).

Zorita et al. (2007) utilizaram a HF-LPME em uma configuração que eles chamaram de extração líquido-líquido em membrana microporosa com fibra oca (HF-MMLLE). A configuração proposta (Figura 2A) usa o interior da membrana (lúmen) para a inserção de um suporte que fica fixado num embolo de seringa, sendo que apenas o solvente impregnado nos poros da membrana atua como fase extratora. É necessária uma etapa de dessorção líquida para a retirada dos analitos dos poros da membrana. Essa membrana suportada, pode ser semiautomatizada em um sistema 96-poços de amostragem (96-well plate), aumentando consideravelmente o número de amostras a serem extraídas simultaneamente (Figura 2B)(ZORITA; BARRI; MATHIASSEN, 2007) .

Figura 2 (A) A configuração para HF-LPME com a membrana suportada, chamada de HF-MMLLE e (B) a configuração acoplada ao sistema 96-poços profundos.



Fonte. (A) Zorita *et al.* (2007); (B) Autoria própria.

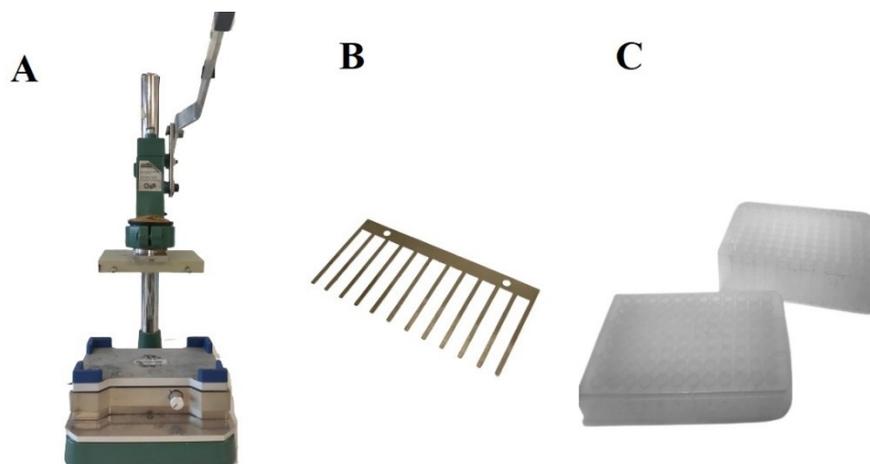
A seleção do solvente de extração a ser impregnado nos poros da membrana é uma etapa crucial na HF-MMLLE, como para todas as técnicas de LPME, sendo as suas propriedades físico-químicas de grande importância. Propriedades como densidade, coeficiente de partição, viscosidade e solubilidade em água devem ser levadas em consideração e por isso, solventes como 1-octanol, clorofórmio, diétil éter e tolueno são solventes comumente utilizados (KOKOSA, 2019; PEDERSEN-BJERGAARD; RASMUSSEN, 2008).

2.2.1.2 Sistema 96-poços de amostragem em técnicas de microextração

O rendimento do preparo de amostras pode ser melhorado aumentando a taxa de amostragem ou analisando várias amostras simultaneamente. O formato de placas de múltiplos poços oferece um modo conveniente de se preparar várias amostras e pode ser utilizado para otimizar as etapas demoradas e trabalhosas do preparo de amostras. O sistema de 96 poços de amostragem (96WP), consiste em uma placa de 8 x 12 poços (totalizando 96 poços) que permite com que sejam realizados procedimentos simultâneos, aumentando a frequência analítica dos procedimentos. Esse tipo de técnica é preferível para o uso em laboratórios de análise e na indústria pois facilita os processos que precisam de análises de rotina. O sistema que pode ser automatizado ou semiautomatizado, faz com que o processo se torne mais “verde” por diversos fatores: maior eficiência do processo, pequena quantidade de amostra, pequena quantidade de material extrator, preparo de até 96 amostras simultaneamente, possibilidade de acoplamento com sistemas e diminuição do tempo de contato das amostras e do analista (HAY *et al.*, 2022; HUTCHINSON;

SETKOVA; PAWLISZYN, 2007a). A Figura 3 mostra as partes de um sistema 96WP semiautomatizado.

Figura 3 (A) Braço mecânico do sistema semiautomático; (B) Pente; (C) Poços para a extração.



Fonte: Autoria própria.

Uma das primeiras aplicações de técnica de microextração com o sistema 96WP foi feita por Hutchinson *et al.* 2007 que acoplaram fibras de SPME e utilizaram para realizar a extração simultânea de quatro hidrocarbonetos policíclicos aromáticos de amostras aquosas. O método apresentou boa reprodutibilidade nas 96 análises feitas. Desde então, diversas outras técnicas já foram acopladas ao sistema. A microextração em filme fino (TFME), evolução da SPME, já foi aplicada para a determinação de alguns disruptores endócrinos em amostras ambientais aquosas. A SDME foi usada com o sistema 96WP e líquidos iônicos magnéticos para a determinação de alguns contaminantes emergentes de amostras aquosa. Algumas técnicas baseadas em membrana, como a microextração em fase líquida baseada em membrana (MP-LPME) e eletromembrana (EME) também já foram reportadas na literatura para a determinação de fármacos e estreptomicina, respectivamente (HANSEN; PEDERSEN-BJERGAARD, 2021; HUTCHINSON; SETKOVA; PAWLISZYN, 2007; KIRSCHNER *et al.*, 2017; MAFRA *et al.*, 2019; SCHÜLLER *et al.*, 2022).

2.3 SOLVENTES EUTÉTICOS PROFUNDOS

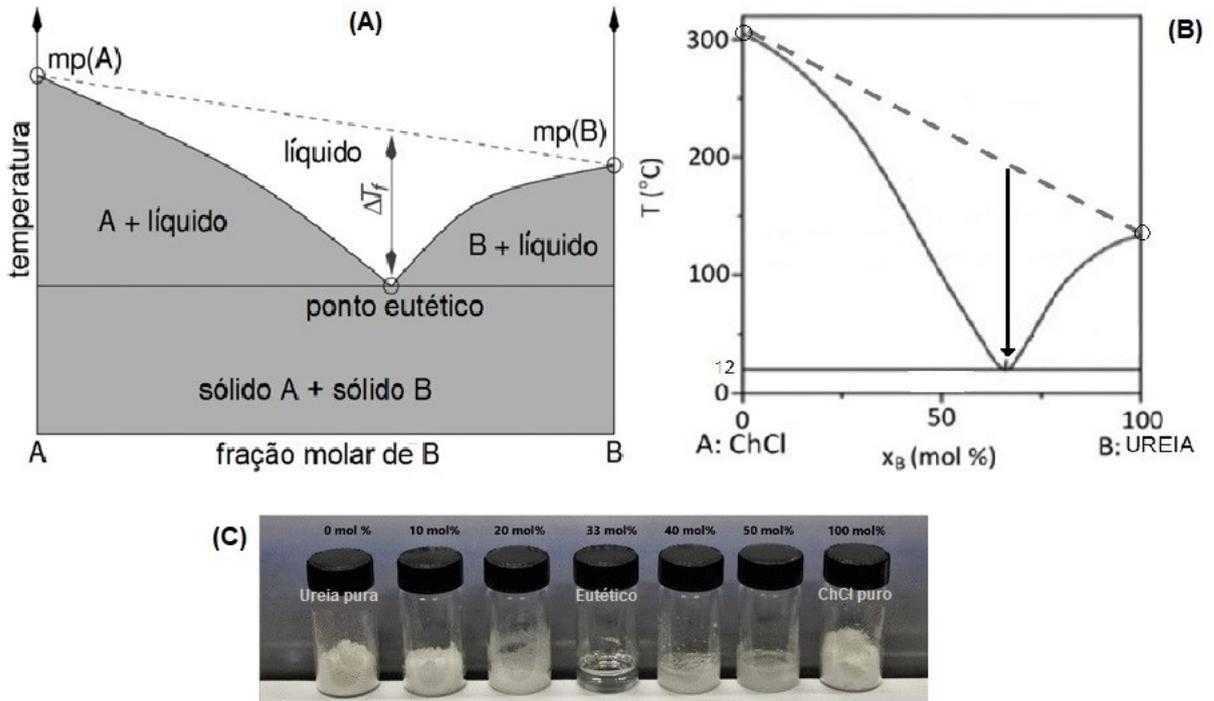
Os solventes ocupam um lugar estratégico no mundo da química verde por serem muitas vezes o componente tóxico de uma extração e a maior fonte de resíduos. A busca por novos solventes que se adequem aos princípios da QAV é tema de diversas pesquisas na comunidade

científica. Uma nova tendência nos chamados “solventes verdes” são os solventes eutéticos profundos (do inglês *deep eutectic solvents*, DES), que têm se tornado cada vez mais atrativos devido a sua viscosidade, baixa volatilidade e natureza menos tóxica. Alguns exemplos da aplicação de DES são: extração de compostos fenólicos de plantas, como meio reacional em diversos processos, para o pré-tratamento de biomassa e na dessulfurização (QIN et al., 2019; CHANDRAN et al., 2019; CHEN; MU, 2019)

Esses solventes foram primeiramente reportados por Abbot et al. (2003), quando eles descreveram as propriedades de uma mistura de cloreto de colina (ChCl) e ureia. Inicialmente, DES eram descritos como uma mistura de compostos por dois componentes que são capazes de se associar via ligação de hidrogênio, porém, novos estudos já mostram que diferentes interações podem formar e contribuir para a formação da mistura eutética. Os DES são caracterizados por possuir uma grande depressão no ponto de congelamento (que originou o termo “profundo”), fazendo com que a mistura possua um ponto de fusão menor do que o ponto de fusão de um ou dos dois componentes individuais, sendo geralmente líquidos em temperaturas menores que 150°C. Algumas das hipóteses para esse acontecimento é a deslocalização da carga e o possível enfraquecimento das interações entre cátion/ânion causada pela formação da ligação de hidrogênio (ABBOTT et al., 2003; ZHANG et al., 2012 YU et al., 2019a, 2019b; YU; MU, 2019).

A Figura 4A traz o diagrama de fases da mistura A+B. A diferença no ponto de congelamento na composição eutética de uma mistura binária comparada à de uma mistura ideal teórica ΔT_f está relacionada à magnitude da interação entre A e B. Quanto maior a interação, maior o ΔT_f . Na figura 4B temos um diagrama de uma mistura de cloreto de colina e ureia. O ponto de fusão do ChCl (A) quando isolado é 302°C e da ureia (B) 133°C, quando ocorre a formação do eutético na proporção 1:2 (ChCl:Ureia) a temperatura de fusão da mistura cai para 12°C, possibilitando assim seu uso na temperatura ambiente. Embora o comportamento entre fases seja facilmente mapeado experimentalmente com diagramas de fases binários ainda é dificilmente descrito pelos modelos termodinâmicos disponíveis (ABBOTT et al., 2002; HANSEN et al., 2020; SMITH; ABBOTT; RYDER, 2014).

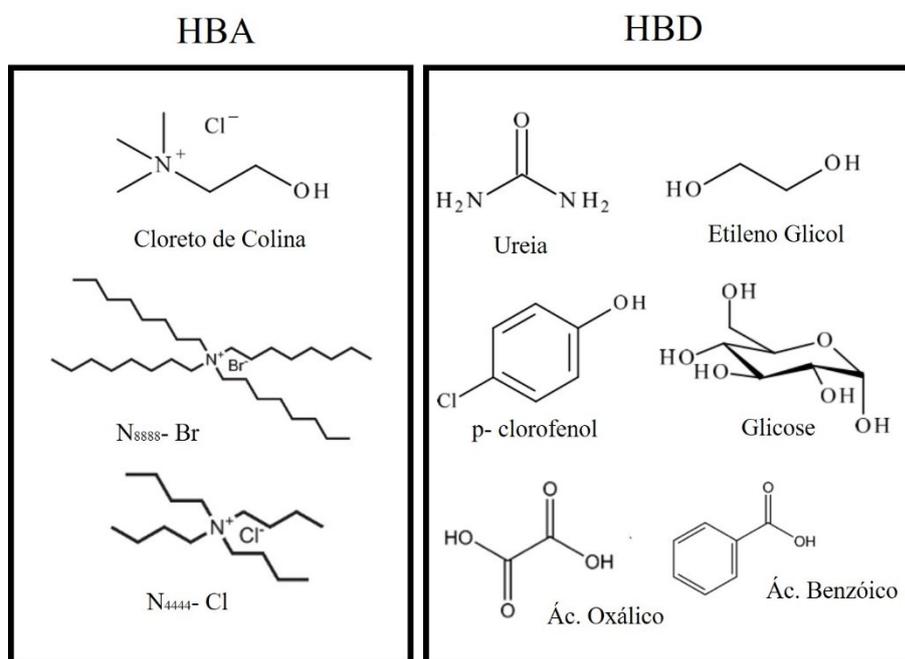
Figura 4 (A) Representação esquemática de um ponto eutético em um diagrama de fases de dois componentes. (B) Representação do diagrama de fases da mistura de cloreto de colina e ureia. (C) aspecto visual das diferentes proporções da mistura (fração molar de ChCl).



Fonte: Adaptado de (A) Smith *et al.* (2014), (B) Abbott *et al.* (2002) e (C) Hansen *et al.* 2020.

Os componentes de um DES podem ser denominados: doadores de ligação de hidrogênio (HBD, do inglês *Hydrogen bond donor*) e receptores de ligação de hidrogênio (HBA, do inglês *Hydrogen bond acceptor*), alguns exemplos dessas estruturas são apresentados na Figura 5.

Figura 5 Exemplos de estrutura de doadores de ligações de hidrogênio (HBD) e receptores de ligações de hidrogênio (HBA), comumente utilizados na síntese de DES.



Fonte: Autoria própria.

As maiores diferenças e vantagens dos DES para os demais solventes, incluindo os líquidos iônicos, é que os componentes necessários para o seu preparo são geralmente de baixo custo, inertes a água, a maioria deles é biodegradável e não tóxico, e o sua produção ser fácil. O preparo dos DES pode ser feito pela mistura dos componentes sob aquecimento brando até a formação de um líquido homogêneo, fazendo com que o seu preparo tenha 100% de economia de átomos. Os DES formados pela mistura de ChCl e outros reagentes já foram amplamente divulgados na literatura incluindo a mistura com ácidos carboxílicos, glicerol, glicose e frutose (FLORINDO et al., 2018; ABBOTT et al., 2004; HAYYAN et al., 2013; SMITH; ABBOTT; RYDER, 2014; ABBOTT et al., 2011; HAYYAN et al., 2012).

Os DES, juntamente com os líquidos iônicos, fazem parte dos chamados “*designers solvents*”, pois durante o seu preparo é possível tentar ajustar algumas de suas propriedades físico-químicas apenas variando os seus componentes. Ainda, trazem a vantagem sob solventes convencionais pois seus diferentes componentes conferem a possibilidade de diferentes interações, assim quando utilizados em extrações, eles aumentam a possibilidade de interação entre o solvente e os analitos de interesse, aumentando a eficiência. A Tabela 1 traz propriedades de alguns DES, nela é possível verificar a variação que os diferentes compostos causam em determinadas propriedades dos solventes. A variação de propriedades como densidade, viscosidade e

temperatura de fusão faz com que seja possível abranger uma gama maior de aplicação desses solventes (ESPINO et al., 2016).

Tabela 1 Densidade, viscosidade e temperatura de fusão dos componentes de alguns DES.

DES (razão molar)	Densidade a 25°C (g.cm ⁻¹)	Viscosidade a 25°C (mm ² .s ⁻¹)	Temperatura de fusão (°C)	Temperatura de fusão dos componentes (°C)
Ureia: ChCl (2:1)	1,25	750	12	133/ 302
Etileno Glicol: ChCl (2:1)	1,12	37	-66	-12/320
Ác. Malônico: ChCl (1:1)	1,25	721	10	135/320
Glicerol: ChCl (2:1)	1,18	359	18	-40/320
Água	0,992	1	-	-

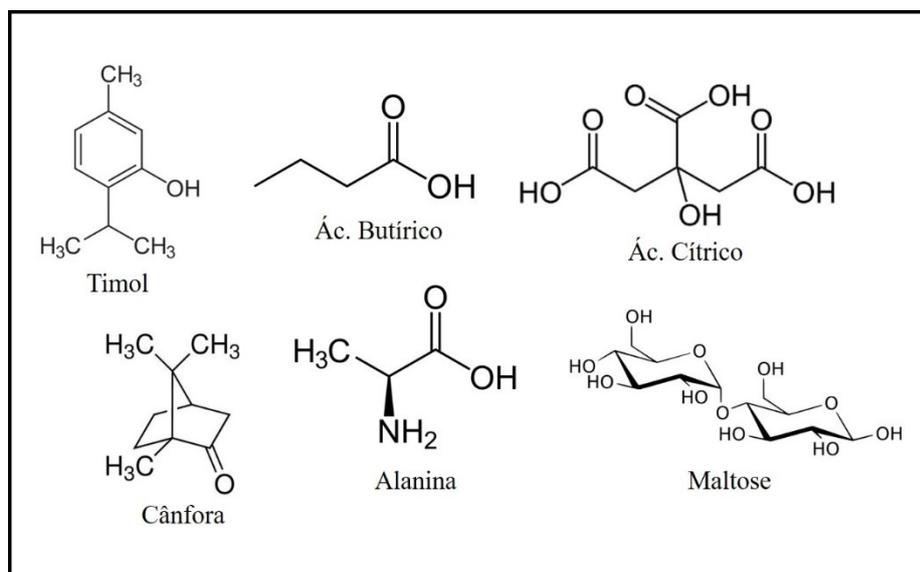
Fonte: Adaptado de Cunha e Fernandes (2018)

2.3.1 Solventes eutéticos profundos naturais

Dentro da classe de solventes conhecidos como DES, uma crescente tendência é o desenvolvimento de DES formados apenas por compostos naturais, os chamados solventes eutéticos profundos naturais, NADES. Os NADES englobam completamente os princípios da química verde por serem constituídos de compostos naturais, não tóxicos em sua maioria, e possuírem um preparo limpo e livre de resíduos. Os NADES foram observados em plantas nas quais muitos metabólitos primários alteravam seu estado de sólido para líquido quando eram misturados em proporções adequadas. Dai et al. (2013) reportaram na literatura mais de 100 combinações de compostos naturais com sacarídeos, polissacarídeos, aminoácidos, e ácidos orgânicos naturais (PAIVA et al., 2014; DAI et al., 2013).

Diferente dos solventes a base de cloreto de colina, que tendem a ser facilmente dissolvidos em água, a busca por NADES introduziu solventes mais hidrofóbicos ao mundo dos DES. Combinação entre diferentes terpenos e ácidos graxos já foram reportados na literatura por formarem NADES hidrofóbicos. Alguns compostos formadores de NADES são encontrados na Figura 6. (MAKOŚ; PRZYJAZNY; BOCZKAJ, 2018a; VAN OSCH et al., 2019)

Figura 6 Possíveis constituintes de solventes eutéticos profundos naturais.



Fonte: Autoria própria.

2.3.2 Solventes eutéticos profundos terapêuticos

A forma eutética de algumas misturas vindo sendo exploradas pela indústria farmacêutica para melhorar a biodisponibilidade de alguns compostos utilizados em suas formulações. A diminuição do ponto fusão aumenta a permeabilidade, absorção intestinal, taxa de dissolução e perfil de solubilidade dos compostos. Com isso surgiu o que se conhece como solventes eutéticos profundos terapêuticos (do inglês *therapeutic deep eutectic solvents*, *THEDES*). Nesses solventes um dos compostos precisa ser um ingrediente farmacêutico ativo (API), esses podendo atuar tanto como HBA ou HBD. Os HBA mais comuns são ChCl e mentol que já foram associados a diversos API como por exemplo ácido acetilsalicílico, ibuprofeno, ácido ascórbico. (RAHMAN et al., 2021; SILVA et al., 2021).

2.3.3 Aplicação dos solventes eutéticos profundos em técnicas de preparo de amostra

A Tabela 2 traz diversas aplicações de DES em técnicas de microextração dos últimos anos. Apesar de um número crescente, a maioria das aplicações encontradas na literatura descreve diferentes variações de microextrações líquido-líquido dispersivas. Microextrações assistidas por ar, gás, ultrassom e micro-ondas são amplamente descritas na literatura. Apesar de conseguiram miniaturizar as técnicas, essas variações são de difícil automatização e as análises precisam ser feitas uma a uma. Fica visível também que os DES a base de ChCl são amplamente explorados, porém, devido a sua alta viscosidade, como visto na Tabela 1, limita o seu uso a determinadas

técnicas de extração. Algumas das aplicações mais inovadoras tentam expandir o uso dos DES nas técnicas de microextração, fugindo dos modelos convencionais. Li *et al.* (2018) desenvolveram uma fibra de SPME com um revestimento sol-gel feito com DES para a determinação de BTEX (Benzeno, Tolueno, Etil-benzeno e Xilenos). Li *et al.* (2019) uniram os conceitos de DES com solventes de hidrofobicidade comutável e, a partir de DES formados de ácidos graxos, realizaram as extrações de licopeno e betacaroteno de sucos pelo que eles chamaram de microextração ácido-base induzida, em que eles adicionavam amônia e ácido clorídrico para emulsificar e desemulsificar a matriz durante a extração. Wang *et al.* (2019) modificaram um nanomaterial magnético com DES e aplicaram a técnica de extração em fase sólida magnética para a determinação de herbicidas em amostras aquosas. As diversas opções de componentes a serem usados na formação de um DES já foram exploradas por Shishov *et al.* (2018 e 2020) e Liu *et al.* (2020) que fizeram com que o DES fosse formado com o analito de interesse, trazendo assim a opção da formação do DES *in situ*. Todas essas aplicações mostram a possibilidade e o potencial dos DES em técnicas de microextração (CUNHA; FERNANDES, 2018; PACHECO-FERNÁNDEZ; PINO, 2019).

Tabela 2 Aplicação de solventes eutéticos profundos em técnicas de microextração nos últimos anos.

Técnica de Extração^a	DES^b	Analitos	Matriz	Instrumento	Referência
LPME	ChCl:Etileno glicol	Fenol, Cresol e Naftol	Óleo modelo	HPLC	(GU et al., 2014)
AA-LLME	ChCl:TNO	Metadona	Urina e sangue	GC-FID	(LAMEI; EZODDIN; ABDI, 2017)
UA-LPME	ChCl: Fenol	Verde Malaquita	Água de aquário	UV-VIS	(AYDIN; YILMAZ; SOYLAK, 2017)
LLE	ChCl:Glicerol	Procainamida	Saliva humana	HPLC-UV	(NUGBIENYO et al., 2017)
GA-DLLME	ChCl: 4-clorofenol	Pesticidas	Frutas e vegetais	GC-FID	(FARAJZADEH; SATTARI DABBAGH; YADEGHARI, 2017)
SPME	ChCl: Ác. Itacônico	Anti-inflamatórios	Amostras aquosas	HPLC	(WANG; LI; CHEN, 2018)

AA-LLME	ChCl:Fenol	Ginsenosídeos	Injeção de Kang'ai	HPLC	(LI et al., 2018)
UA-DLLME	ChCl:Fenol	Ácidos carboxílicos	Amostras aquosas	GC-MS	(MAKOSÍ et al., 2018)
VA-LLME	ChCl: Fenol	POC's, PCB's e EDPB's	Óleo de peixe	GC-MS/MS	(SOLAESA et al., 2019)
AA-LLME	ChCl: Ác. Butírico	Aminas aromáticas	Amostras aquosas	GC-MS	(TORBATI et al., 2018)
A-LLME	ChCl:Fenol	Cafeína	Bebidas	HPLC-UV	(SHISHOV et al., 2019a)
VA-LLME	ChCl: Glicose:Água	Ortofosfato	Água	UV-VIS	(NAJAFI; HASHEMI, 2019)
AA-EME	ChCl: Fenol	Antidepressivos	Plasma	HPLV-UV	(MOGHADAM; RAJABI; ASGHARI, 2018)
HF-LPME	ChCl: Feniletanol	Agentes antiarrítmicos	Plasma, Urina e água	HPLC-UV	(RAJABI et al., 2019)

In situ MBME	ChCl: analitos	Compostos fenólicos	Alimentos defumados	HPLC-FLD	(SHISHOV; GAGARIONOVA; BULATOV, 2020)
LLME	ChCl: Ác. Oleico	Estabilizantes	Bebidas embaladas	HPLC-UV	(NAEBI et al., 2020)
VA-DLLME	N ₄₄₄₄ -Cl: Ác. Octanóico	Pigmentos sintéticos	Bebidas	HPLC	(ZHU et al., 2018)
SPME	N ₈₈₈₁ -Cl: 4-Hidroxibenzoato	BTEX	Água	GC-FID	(LI et al., 2019b)
VA-LLME	N ₄₄₄₄ - Cl: Etileno glicol	Herbicidas triazinas	Óleos vegetais	HPLC-UV	(WANG et al., 2019)
VA-LLME	N ₈₈₈₁ -Cl: 4-cianofenol	Formaldeído	Sangue e ar	HPLC	(ZHANG et al., 2019)
UA-AEME	N ₄₄₄₄ - Cl: Ác. Decanóico	Quercetina	Frutas e vegetais	UV-VIS	(KANBEROGLU; YILMAZ; SOYLAK, 2019)
In situ DLLME	N ₄₄₄₄ -Br: Heptanol	17 β - Estradiol	Gel transdermal	GC-MS	(SHISHOV et al., 2019b)
MSPD	N ₄₄₄₄ -Cl: Hexanol	Aflatoxinas	Cereais	HPLC-FLD	(WU et al., 2019)
DLLME	N ₈₈₈₁ -Br: Ác. Decanóico	Fluoroquinolinas	Leite, mel e água	MECC	(YU et al., 2020)

UA-LLME	N ₄₄₄₄ -Br: Ác. Decanóico	Tartrazina	Amostras aquosas	UV-VIS	(SOYLAK; UZCAN, 2020)
SDME	N ₄₄₄₄ -Br: Ác. Dodecanóico	Terpenos	Temperos	GC-MS	(TRIAUX et al., 2020)
VA-LLME	N ₈₈₈₁ - Cl: Ác.Oleico	Corante	Alimentos	HPLC-DAD	(ZHANG et al., 2020)
UA-DLLME	[P _{14,6,6,6}] Cl: Ác. Dodecanóico	Inseticidas piretróides	Água	HPLC-UV	(LIU et al., 2019)
HF-LPME	Fosfônio: Etileno glicol	Hormônios esteroidais	Urina e plasma	HPLC-UV	(KHATAEI et al., 2018)
AA-LPME	BTTPB: Undecanol	Retardantes de chamas organofosforados	Amostras aquosas	GC-MS	(SHAHBODAGHI et al., 2020)
DLLME	Ác Fenilacético: Trimetilglicina	Fenilpropanóides	Óleos comestíveis	UHPLC- PDA	(FERRONE et al., 2018)
In Situ DES- LLME	Mentol: analitos	Cetoprofeno e Diclofenaco	Urina	HPLC-UV	(SHISHOV et al., 2018a)

In Situ hDES-SA-LLME	Timol: Ác. Heptanóico	Antibióticos	Água	HPLC-UV	(LI et al., 2020)
DLLME	Mentol:Ác. Fenilacético	Pesticidas	Plasma e urina	GC-MS	(JOUYBAN; FARAJZADEH; AFSHAR MOGADDAM, 2019)
In situ LLME	Mentol:Ác. Decanóico	Parabenos	Água	HPLC-DAD	(GE et al., 2019)
EA-DLLME	Mentol: Ác. Fórmico	Cetoprofeno e Diclofenaco	Fígado	HPLC-MS/MS	(SHISHOV et al., 2020)
DLLME	Mentol: Ác. Acético	Ésteres de ác. Ftálico	Água	HPLC-UV	(ORTEGA-ZAMORA et al., 2020)
UA-DLLME	Timol: Cânfora	HPA's	Amostras Aquosas	GC-MS	(MAKOŚ; PRZYJAZNY; BOCZKAJ, 2018b)
UA-SLME	Timol: Cumarina	Corantes Sudan	Temperos	HPLC-UV	(SIVRIKAYA OZAK; YILMAZ, 2020)
AS-LPME	Betaina: Ác. Oxálico	Paracetamol	Ureia sintética e amostras farmacêuticas	UV-VIS	(DOĞAN; ELIK; ALTUNAY, 2020)

VA-LPME	Betaine: Glicerol	Curcumina	Alimentos	UV-VIS	(ALTUNAY; ELIK; GÜRKAN, 2020)
LLME	Ác. Nonanóico: Ác. Decanóico: Ác. Undecanóico	β -Caroteno e Licopeno	Suco de fruta	HPLC-UV	(LI et al., 2019a)
GA-LLME	Ác. Octanóico: Ác. Nonanóico: Ác. Dodecanóico	Plastificantes	Água	HPLC-UV	(YANG et al., 2019)

^a A- automated; AA- air assisted; EA- effervescence assisted; GA- gas assisted; UA- ultrasound assisted; VA- vortex assisted.

^b TNO- tetrametilfanftalenol; N₄₄₄₄- tetrabutyl amônio; N₈₈₈₁- metiltriocil amônio; [P_{14,6,6,6}]- trihexil(tetradecil)fosfônio; BTPPB- brometo de benziltrifenilfosfônio.

CAPÍTULO III – OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Este estudo tem por objetivo o desenvolver metodologias analíticas aplicando solventes eutéticos profundos na técnica extração líquido-líquido em membrana microporosa com fibra oca (HF-LLMME) usando o sistema 96-poços de amostragem para a determinação de contaminantes emergentes em amostras de ambientais e alimentícias por HPLC-DAD.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Preparar diferentes DES com potencial de aplicação à técnica HF-LLMME;
- Caracterizar os DES por espectroscopia de infravermelho, calorimetria diferencial de varredura e ângulo da gota;
- Preparar as membranas de polipropileno impregnadas com DES e acoplá-las ao sistema 96-poços de amostragem;
- Avaliar o DES que melhor se apliquem a HF-MMLLE e comparar a eficiência de extração dos DES suportados na membrana;
- Otimizar o solvente e tempo de dessorção para cada metodologia desenvolvida;
- Avaliar as melhores condições de extração para o pH, porcentagem de sal, temperatura e tempo;
- Determinar os principais parâmetros analíticos de mérito como limite de detecção, quantificação, faixa linear de trabalho e coeficiente de determinação;
- Realizar ensaios de precisão intra e interdia, assim como de recuperação relativa;
- Aplicar a metodologia desenvolvida em amostras reais.

CAPÍTULO IV - PREPARO E CARACTERIZAÇÃO DOS DES

4.1 INTRODUÇÃO

Os DES preparados foram escolhidos de acordo com a possibilidade de aplicação e disponibilidade dos componentes. Foram preparadas diversas misturas de diferentes componentes e proporções, algumas delas já reportas na literatura e outras inéditas. Os DES a base de cloreto de colina, e sais de amônio quaternário, já são amplamente discutidos na literatura quanto as suas características físico-químicas, porém, ainda existe uma lacuna referente a caracterização de DES hidrofóbicos. As caracterizações escolhidas buscaram trazer informações básicas quanto a formação e as propriedades dos solventes preparados. A espectrometria de infravermelho, foi usada para avaliar a formação da interação de hidrogênio entres os componentes do DES. A calorimetria diferencial de varredura foi utilizada para determinar o decaimento do ponto de fusão dos solventes formados, e o ângulo da gota para determinar a hidrofobicidade/hidrofilicidade dos solventes.

4.2 MATERIAIS E MÉTODOS

Os reagentes utilizados foram: Timol ($\geq 98.5\%$), Cânfora (96%), Ácido Dodecanóico (GC, $\geq 99\%$), Ácido Decanóico (FCC, FG, $\geq 98\%$), Ácido Nonanóico ($\geq 97\%$), Ácido Octanóico ($\geq 99\%$), Ácido Heptanóico ($\geq 98\%$), Ácido Hexanóico (GC, $\geq 98\%$), Ácido Butírico ($\geq 99\%$), Coumarina (HPLC, $\geq 99\%$), Ácido Levulínico ($\geq 99\%$), Cloreto de Colina ($\geq 98\%$), Uréia (98%), D-(+)-Glicose (GC, $\geq 99.5\%$), Glicerol, D-Sorbitol ($\geq 98\%$) e Propileno Glicol todos obtidos da Sigma Aldrich (St. Louis, MO, USA).

4.2.1 Métodos

Foram preparadas 28 misturas, que foram aquecidas em chapa de aquecimento a 80 °C até o surgimento de uma mistura homogênea. As proporções de cada mistura e a sigla utilizada para cada mistura ao decorrer da escrita desse trabalho se encontram na Tabela 3.

Tabela 3: Lista de solventes preparados para aplicação nas metodologias desenvolvidas.

DES	Composto 1	Composto 2	Sigla	Proporção
1	Timol	Ác. Decanóico	T:C10	1:1
2	Timol	Ác. Nonanóico	T:C9	1:1
3	Timol	Ác. Octanóico	T:C8	1:1
4	Timol	Ác. Heptanóico	T:C7	1:1
5	Timol	Ác. Hexanóico	T:C6	1:1
6	Timol	Cânfora	T:CANF	1:1
7	Timol	Coumarina	T:COU	1:1
8	Timol	Ác. Levulínico	T:LEV	1:1
9	Cânfora	Ác. Decanóico	CANF:C10	1:1
10	Cânfora	Ác. Nonanóico	CANF:C9	1:1
11	Cânfora	Ác. Octanóico	CANF:C8	1:1
12	Cânfora	Ác. Heptanóico	CANF:C7	1:1
13	Cânfora	Ác. Hexanóico	CANF:C6	1:1
14	Ác. Decanóico	Ác. Nonanóico	C10:C9	1:1
15	Ác. Decanóico	Ác. Octanóico	C10:C8	1:1
16	Ác. Decanóico	Ác. Heptanóico	C10:C7	1:1
17	Ác. Decanóico	Ác. Hexanóico	C10:C6	1:1
18	Ác. Dodecanóico	Ác. Decanóico	C12:C10	1:2
19	Ác. Dodecanóico	Ác. Nonanóico	C12:C9	1:2
20	Ác. Dodecanóico	Ác. Octanóico	C12:C8	1:3
21	Ác. Dodecanóico	Ác. Heptanóico	C12:C7	1:3
22	Ác. Dodecanóico	Ác. Hexanóico	C12:C6	1:3
23	Ác. Dodecanóico	Ác. Butírico	C12:C4	1:3
24	Cloreto de Colina	Ureia	CC:U	1:2
25	Cloreto de Colina	Glicose	CC:GL	2:1
26	Cloreto de Colina	Glicerol	CC:GCL	1:2
27	Cloreto de Colina	Sorbitol	CC:SOR	1:1
28	Cloreto de Colina	Propileno Glicol	CC:PG	1:5

Fonte: Autoria própria

4.2.2 Instrumentos

A caracterização foi feita de acordo com os resultados obtidos nos projetos. Foram realizadas algumas técnicas de caracterização para os DES dentre elas infravermelho (IV), calorimetria diferencial de varredura (DSC) e ângulo de contato da gota (CA).

Um espectrofotômetro de Infravermelho da marca Bruker, modelo Alpha, foi utilizado para obtenção dos espectros em pastilha de KBr.

Foram utilizados dois calorímetros para obtenção dos pontos de fusão um Calorímetro diferencial de varredura modelo DSC-50 marca Shimadzu, aquecimento $5\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ de $-100\text{ }^{\circ}\text{C}$ até $25\text{ }^{\circ}\text{C}$, atmosfera de nitrogênio 50 mL min^{-1} , célula de alumínio e um Calorímetro Q200 da marca TA Instrumentos equipado com módulo de resfriamento RCS90 aquecimento $5\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ de $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ até $30\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Para a determinação do ângulo de contato da gota foi utilizado um goniômetro modelo Ramé- Heart 250, a avaliação foi feita sob uma superfície de teflon.

4.3 RESULTADOS

4.3.1 Calorimetria Diferencial de Varredura

A técnica de DSC pode ser utilizada para a identificação do ponto de fusão das misturas, podendo assim verificar o abaixamento característico dos solventes eutéticos em relação aos componentes. Foram caracterizados por DSC o solvente com melhor resposta no primeiro projeto e os solventes avaliados no segundo projeto. A Tabela 4 traz os valores de temperatura de fusão (T_f) dos compostos isolados e de algumas misturas preparadas. Os ácidos dodecanóico, decanóico o timol e a cânfora tendem a ser sólidos a temperatura ambiente, quando na forma de DES com diferentes combinações a maioria das misturas se encontra na forma líquida em temperaturas abaixo de $20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Para a mistura T:CANF, não foi possível determinar uma temperatura de fusão, pois até o limite de temperatura de resfriamento do equipamento não se obteve a forma sólida da mistura, porém já foi reportado na literatura o ponto de fusão de $-44\text{ }^{\circ}\text{C}$ (BOND, 2003 ; MAKÓŚ; PRZYJAZNY; BOCZKAJ, 2018).

Tabela 4: Temperatura de fusão dos componentes separados e na mistura eutética. Valores obtidos pela técnica de calorimetria diferencial de varredura.

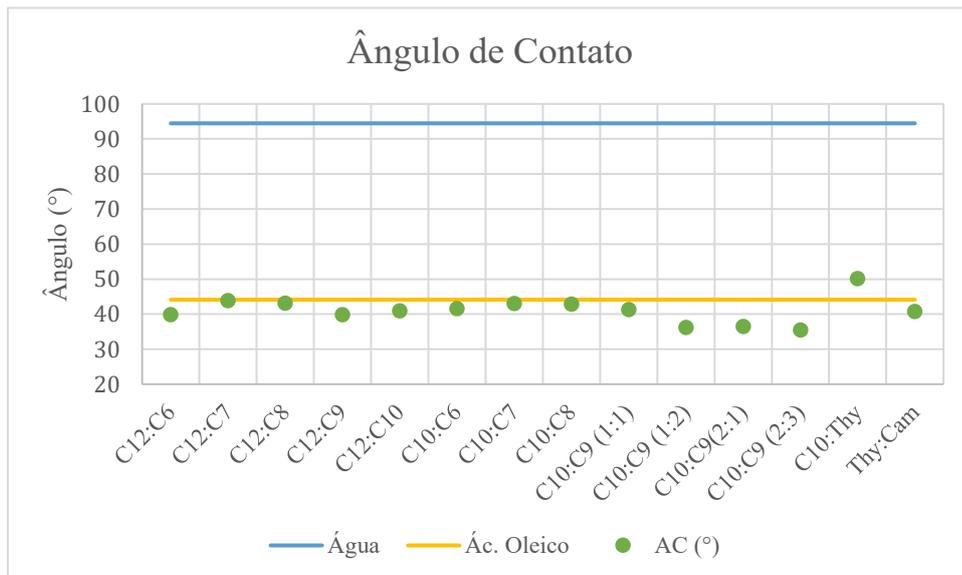
	Proporção	Tf ₁ (°C)	Tf ₂ (°C)	Tf da Mistura(°C)
C12:C6	1:3	44,85	-2,15	15,4
C12:C7	1:3	44,85	-11,15	16
C12:C8	1:3	44,85	15,85	15,6
C12:C9	1:2	44,85	11,85	12,4
C12:C10	1:2	44,85	31,85	24,4
C10:C6	1:1	31,85	-2,15	13,8
C10:C7	1:1	31,85	-11,15	22,2
C10:C8	1:1	31,85	15,85	15,6
C10:C9	1:1	31,85	11,85	15,7
C10:C9	1:2	31,85	11,85	11
C10:C9	2:1	31,85	11,85	22,2
C10:C9	2:3	31,85	11,85	13,6
T:Canf	1:1	49,6	179,8	-

Fonte: Temperatura dos componentes individuais Bond, 2003 e Makós *et al.* 2018.

4.3.2 Ângulo de contato da gota

Foram utilizados água e ácido oleico como base comparativa para os resultados. Os ângulos de contato são encontrados na figura 7. Foram caracterizados pelo ângulo de contato o solvente com melhor resposta no primeiro projeto e os solventes avaliados no segundo projeto.

Figura 7: Ângulo de contato dos DES com a superfície de teflon. Água e ácido oleico tomados como referência.



Fonte: Autoria própria.

Os ângulos de contato para os DES avaliados variaram entre $35,47^\circ$ (C10:C9 (2:3)) e $50,15^\circ$ (C10:Thy); para água foi obtido um ângulo de contato de $94,46^\circ$ e para o ácido oleico $44,14^\circ$. Chichocki *et al.* (2022) propuseram o uso do goniômetro e o ângulo de contato, para a determinação da polaridade dos DES, podendo assim, caracterizá-los em hidrofóbicos e hidrofílicos baseado na comparação com outros DES e/ou outras substâncias. Considerando que, de acordo com os resultados obtidos, a superfície é hidrofóbica (o ângulo de contato com a água é maior que 90°) e levando em conta o fato de o ácido oleico ser um ácido graxo de cadeia longa (18 carbonos) é possível concluir pela Figura 7 que os DES avaliados se assemelham em hidrofobicidade ao ácido oleico fazendo deles boas opções para extrações de analitos em meios aquosos. A Figura 8 apresenta a imagem do ângulo de contato da água, ácido oleico e do DES C10:C9 (2:3), no qual foi obtido a maior diferença em relação a água (CHICHOCKI *et al.*, 2022).

Figura 8: Ângulo de contato da água (A) ácido oleico (B) DES C10:C9 (2:3) (C) com a superfície de teflon.



Fonte: Autoria própria.

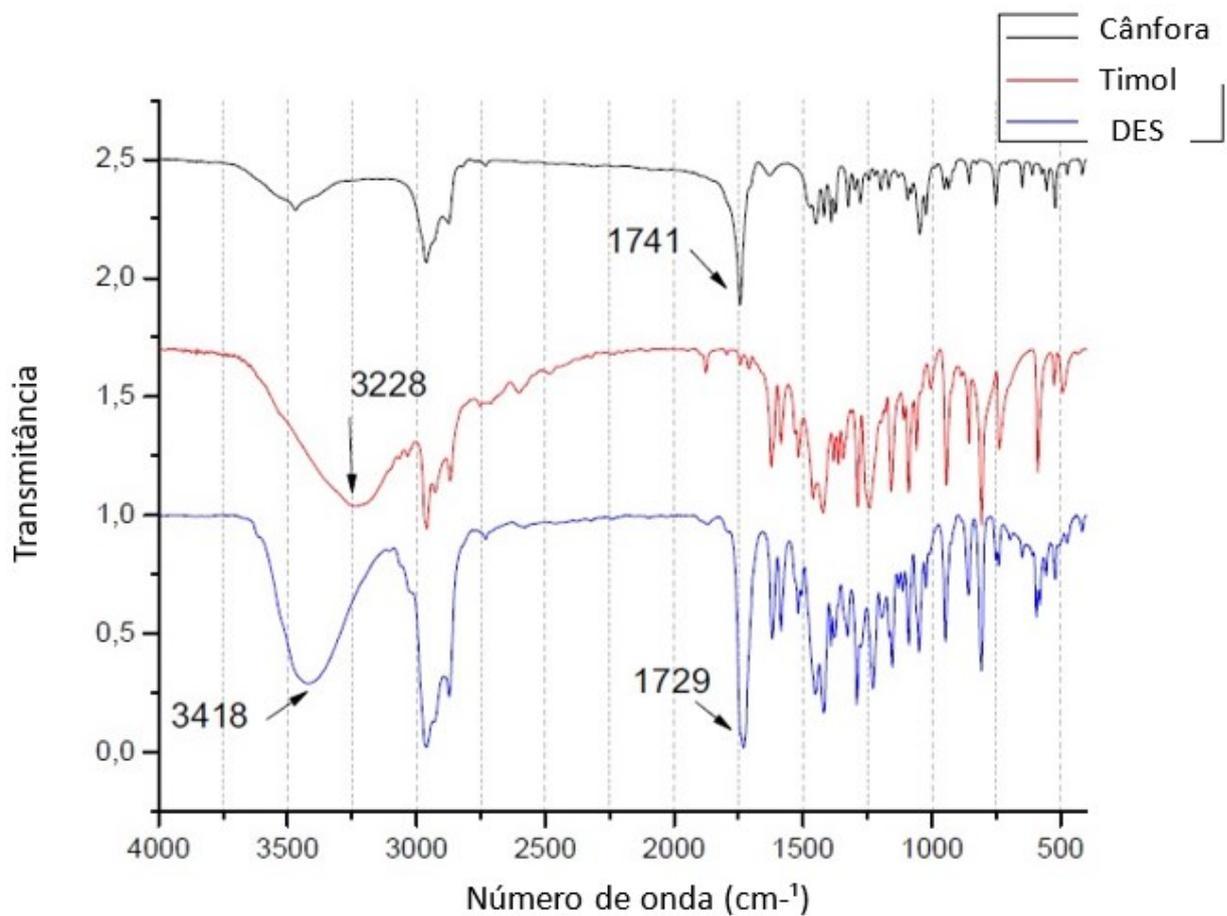
4.3.3 Espectroscopia de Infravermelho

A técnica de infravermelho tem sido usada como uma maneira de identificar a formação de DES em diversos trabalhos. Devido a formação da ligação de hidrogênio entre os HBAs e HBDs, geralmente, ocorre uma pequena mudança nas bandas das hidroxilas e carbonilas das moléculas que participam da interação. Comparando os espectros dos compostos isolados e dos DES é possível verificar a possível formação. Foram obtidos os espectros dos DES de T:CANF e C10:C9 (2:3), os solventes que obtiveram as melhores resposta de extração nos projetos realizados (MJALLI *et al.*, 2017; YIN *et al.*, 2022).

A partir do espectro de infravermelho (Figura 9) é possível verificar a mudança da banda da hidroxila do timol de 3228 cm^{-1} para 3418 cm^{-1} , como também o deslocamento da banda da carbonila da cânfora de 1741 cm^{-1} para 1729 cm^{-1} que já foi reportada na literatura como

indicação da formação de ligação de hidrogênio entre timol e cânfora. A mesma mudança da carbonila pode ser observada na formação do DES composto de ácido decanóico e nonanóico (Anexo Figura A1). Quando isolados ambos possuem uma banda relativa a carbonila em 1713 cm^{-1} , porém quando na forma do DES a banda da carbonila se desloca para 1700 cm^{-1} (MAKÓS; PRZYJAZNY; BOCZKAJ, 2018c).

Figura 9: Comparação dos espectros de infravermelho dos componentes individuais e do DES de timol e cânfora



Fonte: Autoria própria.

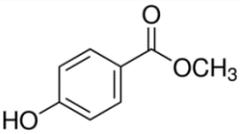
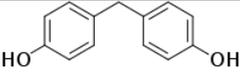
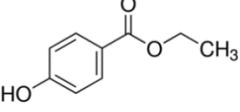
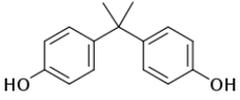
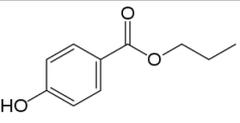
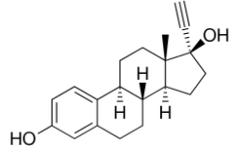
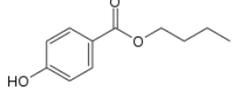
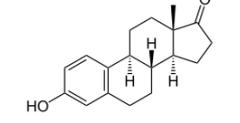
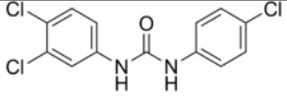
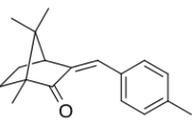
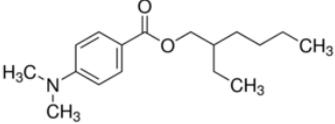
CAPÍTULO V- DES APLICADO À MICROEXTRAÇÃO EM FIBRA OCA PARA A DETERMINAÇÃO DE CONTAMINANTES EMERGENTES EM AMOSTRAS DE ÁGUA.

5.1 INTRODUÇÃO

Visando uma abordagem multiclasse para o desenvolvimento da metodologia, foram selecionados contaminantes emergentes de diferentes fontes. Os contaminantes selecionados foram: metilparabeno (MeP), etilparabeno (EtP), propilparabeno (PrP), butilparabeno (BuP), conservantes utilizados em produtos de beleza e higiene; bisfenol A (BPA), bisfenol F (BPF), plastificantes; 17- β -estradiol (17-BE), etinilestradiol (EE2), hormônios; triclocarban (TCC), antibacteriano; 4-metilbenzilideno canfora (4-MBC), e 2-etilhexil 4-(dimetilamino) benzoato (OD-PABA), filtros solares. A Tabela 5 traz informações sobre as principais propriedades dos analitos. A abordagem multiclasse é englobada nos princípios da química verde pois diminui a necessidade de uma técnica específica para cada analito e/ou classe. O primeiro trabalho desenvolvido aplica a HF-MMLLE, utilizando o sistema 96 poços de amostragem e um DES como solvente extrator para a determinação de contaminantes emergentes em diferentes amostras ambientais de água.

Pelo fato de os CE não serem eliminados no tratamento de água e o fato de grande parte da população brasileira não ter acesso ao saneamento básico, foram escolhidas amostras que representassem esses dois cenários para a aplicação da técnica. Foi coletada água de abastecimento da região central de Florianópolis e do córrego que rodeia a Universidade Federal de Santa Catarina. O córrego provém de todas as comunidades em torno da universidade e desemboca no manguezal do Itacorubi, sendo liberado diretamente no mar.

Tabela 5: Analitos utilizados para o desenvolvimento da metodologia, suas estruturas, log P e pKa.

Analitos	Sigla	Estrutura	Log P	pKa
Metilparabeno	MeP		1,67	8,5
Bisfenol F	BPF		3,46	9,84
Etilparabeno	EP		2,03	8,5
Bisfenol A	BPA		4,04	9,78
Propilparabeno	PP		2,55	8,5
Etinilestradiol	EE2		3,90	10,33
Butilparabeno	BP		3,00	8,5
Estradiol	17B-E		4,31	10,33
Triclocarban	TCC		4,93	11,42
Enzacamen(4-metilbenzilideno cânfora)	4-MBC		5,12	-
2-Etilhexil 4-(dimetilamino) benzoato	OD-PABA		5,11	2,9

Fonte: NCBI, PubChem Compound Database.

5.2 MATERIAIS E MÉTODOS

5.2.1 Materiais

Padrões analíticos: metilparabeno, etilparabeno, propilparabeno, butilparabeno, bisfenol A ($\geq 99\%$), bisfenol F, estrona ($\geq 99\%$), etinil estradiol ($\geq 99\%$), triclocarban, 4-metilbenzilideno cânfora e 2-etilhexil 4- (dimetil amino) benzoato foram todos adquiridos da Sigma Aldrich (St. Louis, MO, USA). Acetona (Ace), metanol (MeOH) e acetonitrila (ACN) com $> 99.8\%$ de pureza foram adquiridos da Merck (Kenilworth, NJ, USA.). Água ultrapura (UPW) ($18.2 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$) foi obtida pelo sistema de purificação Mega Purity (Billerica, MA, USA). Membranas ocas PP300/1200 Accurel® (diâmetro interno de 1.2 mm, grossura de 300 μm e tamanho do poro 0.2 μm) foram obtidos da Membrane (Wuppertal, Germany).

5.2.2 Instrumentos

O sistema 96 poços de amostragem usado nas extrações foi obtido da PAS Technologies Inc. (Bruder Mannesmann Werkzeuge, Remscheid, Germany). Poços com volume de 500 μL foram usados na impregnação e na dessorção das membranas e poços de 2 mL foram usados na extração. Um injetor manual Rheodyne 7725i (Rohnert Park, CA, USA) e um loop de injeção de 20 μL acoplado a um cromatógrafo líquido (modelo LC20AT) com detector de arranjo de diodos (modelo SPD-20A Series) obtido da Shimadzu (Kyoto, Japão); uma coluna analítica Phenomenex Kinetex C18 (250 mm x 4,6 mm i.d. x 5,0 μm , Torrance, CA, USA) com um fluxo de 1 mL min^{-1} foi usado para a separação e quantificação. Um gradiente de fase móvel com ACN (A) e UPW (B) foi usado para a separação e as condições cromatográficas foram: começando com 50% de ambas as fases (0,01 a 4 min); aumento da fase A para 80% (4,01 a 10 min); mantido 80% A (10,01 a 20 min); diminuição para 50% de A (20,01 a 25 min); após retorno a condição inicial (25,01 a 30 min). O *dwell-volume* calculado para o sistema foi de 3,6 mL. Os comprimentos de onda monitorados e os tempos de retenção de cada analito são apresentados na tabela 6.

Tabela 6 Tempo de retenção e comprimento de onda utilizado para a identificação dos analitos utilizados no primeiro projeto.

Analito	Tempo de Retenção (min)	Comprimento de Onda (nm)
MeP	3,43	200
BPF	3,72	200
EtP	4,05	260
BPA	4,74	200
PrP	5,15	200
EE2	6,3	200
BuP	6,96	260
17BE	7,10	200
TCC	14,14	265
4-MBC	16,54	300
OD-PABA	20,7	310

Fonte: Autoria própria.

5.2.3 Procedimentos

5.2.3.1 Preparação do sistema 96 poços profundos

As fibras ocas de polipropileno foram cortadas em tubos cilíndricos de 1 cm e submetidos a um processo de limpeza. Os tubos foram colocados em frascos contendo ACN: MeOH (1:1) (v/v) e sonicados por 30 min. O processo foi repetido com acetona e depois o solvente foi evaporado a temperatura ambiente. Com a ajuda de pinças, os tubos foram colocados nos pinos dos pentes do sistema 96 poços profundos.

5.2.4 Metodologia

5.2.4.1 Triagem dos DES

Os DES de número 1,6,18, 22-28 indicados na Tabela 3 foram testados. Para a impregnação do solvente na fibra, 400 μL de cada DES foram adicionados aos poços de 500 μL e as fibras suportadas foram imersas por 10 min. Depois de imersas, foram colocadas nos poços de extração contendo 1,5 mL de solução aquosa com os analitos, na concentração de 500 $\mu\text{g L}^{-1}$, e deixadas sob agitação moderada por 1 h. Em seguida, os poços de extração foram substituídos por poços de dessorção contendo 300 μL de uma solução de ACN:MeOH (1:1) (v/v) e dessorvidos por 30 min.

20 μL da solução de dessorção foram injetados manualmente no HPLC-DAD. Todas as análises foram feitas em replicata ($n=3$) para cada DES. Uma membrana sem o solvente impregnado foi analisada para a comparação.

5.2.4.2 Otimização dos parâmetros

O solvente de dessorção foi otimizado por um design *simplex-centroide*, as condições foram as mesmas utilizadas no processo descrito em 5.2.4.1, mas numa concentração de 300 $\mu\text{g L}^{-1}$. Doze experimentos foram realizados com diferentes composições de ACN, MeOH e ACE. A composição volumétrica de cada mistura é apresentada na Tabela 7. O tempo de dessorção foi avaliado de modo univariado para 5, 15 e 30 min, em triplicata para cada tempo.

Tabela 7: Proporções volumétricas utilizadas no planejamento *simplex-centroide* para a otimização do melhor solvente de dessorção.

Experimento	ACN (μL)	MeOH(μL)	ACE(μL)
1	50	200	50
2	0	300	0
3	300	0	0
4	150	150	0
5	100	100	100
6	50	50	200
7	150	0	150
8	100	100	100
9	0	150	150
10	100	100	100
11	0	0	300
12	200	50	50

Fonte: Autoria própria

Para os parâmetros de extração: tempo, % de sal e pH foram otimizados baseados em um fatorial fracionado 2^3 . Foram avaliados o tempo variando entre 40-80 min, porcentagem de sal de 5 a 15% e pH de 4 a 8 (Tabela 8). Com os resultados obtidos do fatorial foi necessário outro ensaio com os parâmetros pH e tempo de extração. Sendo assim, um design Doehlert (Tabela 9) foi usado, e 9 experimentos foram realizados. O tempo variando de 10 a 50 min e o pH de 4 a 6. As médias geométricas das áreas dos picos foram usadas como respostas nas otimizações.

Tabela 8: Planejamento fatorial 2^3 utilizado na otimização dos parâmetros de extração.

Experimento	pH	Sal (% m/v)	Tempo (min)
1	4	5	40
2	8	15	40
3	8	5	40
4	4	15	40
5	6	10	60
6	6	10	60
7	6	10	60
8	6	10	60
9	4	15	80
10	4	5	80
11	8	5	80
12	8	15	80

Fonte: Autoria própria

Tabela 9: Planejamento Doehlert utilizado para a otimização do tempo e pH de extração.

Experimento	pH	Tempo (min)
1	5	10
2	4	20
3	6	20
4	5	30
5	5	30
6	5	30
7	4	40
8	6	40
9	5	50

Fonte: Autoria própria

5.2.4.3 Validação da metodologia proposta

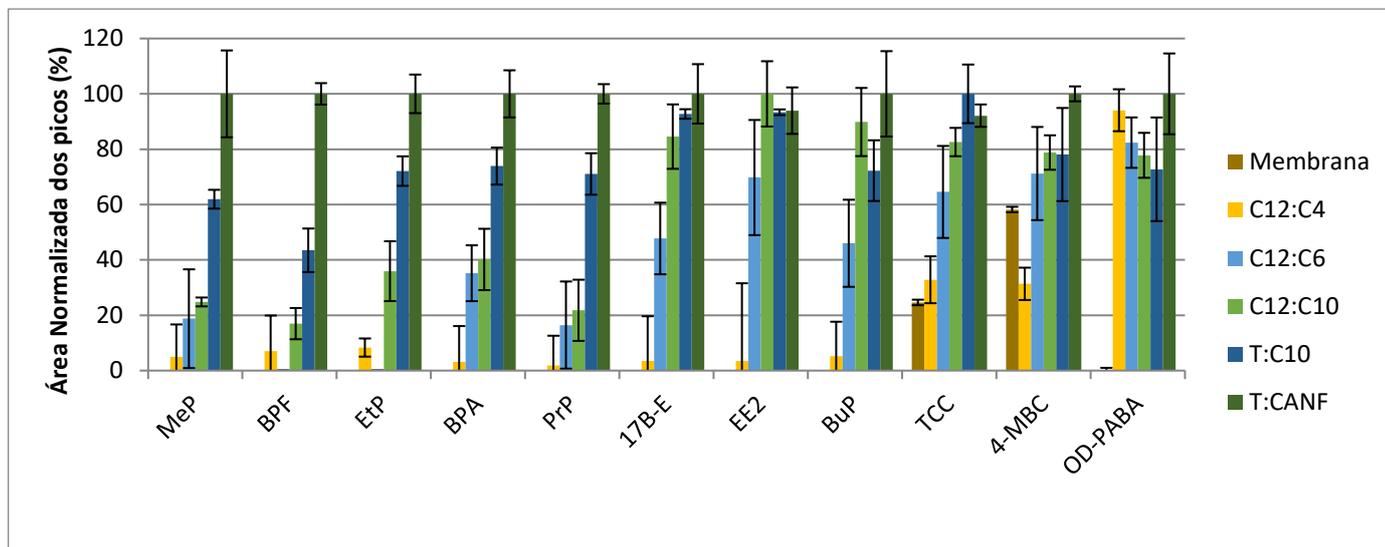
As curvas de calibração foram obtidas em água ultrapura, com diferentes concentrações dos analitos em cinco níveis (n=3). O limite de quantificação (LOQ), foi determinado como o primeiro ponto da faixa linear da curva; o limite de detecção (LOD) como LOQ /3,3. Coeficientes de determinação (R^2) e faixa linear foram obtidas a partir das curvas de calibração. Precisão intradia (n=3) e interdia (n=9) foram definidas a partir do desvio padrão relativo entre as medidas (RSD). Recuperações relativas, calculadas relativas à concentração inicial da amostra, foram avaliadas através de extrações, feitas com o método otimizado, em amostras de água de torneira e de córrego em três níveis (10, 50 e 200 $\mu\text{g L}^{-1}$).

5.3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.3.1 Comparação da eficiência de extração

Pela preparação, uma primeira avaliação foi feita baseado nas propriedades físico-químicas. DES feitos com cloreto de colina se mostraram extremamente viscosos e tinham propriedades hidrofílicas, eram facilmente dissolvidos em água, fazendo deles inaplicáveis a técnica de microextração escolhida. Eram facilmente dissolvidos em água por serem preparados combinando ChCl com açúcares, álcoois de cadeia curtas e amidas, todos com sítios disponíveis para ligações de hidrogênio. As ligações de hidrogênio também são responsáveis pela alta viscosidade dos DES hidrofílicos. DES preparados com ácidos carboxílicos de cadeia longa e cânfora apresentaram baixa viscosidade e solubilidade desprezível em água. Eles foram preparados com molécula de baixa polaridade e cadeias longas (6, 10 e 12 carbonos), o que fez com que eles se tornassem insolúveis em água e o motivo que foram escolhidos para serem aplicados a técnica. Os DES hidrofóbicos não são voláteis e não são tão viscosos como os DES hidrofílicos, mas ainda apresentam viscosidade suficiente para ficarem impregnados nos poros da membrana, um fator fundamental para a técnica. Os cromatogramas do extrato se encontram nos anexos Figuras A2-A7.

Figura 10 Comparação da eficiência de extração dos DES. Condições fixadas: Extração: 1,5 mL de UPW, fortificado a 250 $\mu\text{g L}^{-1}$ e 1 hora de extração. Dessorção: 300 μL de ACN:MeOH (1:1) e 30 minutos.

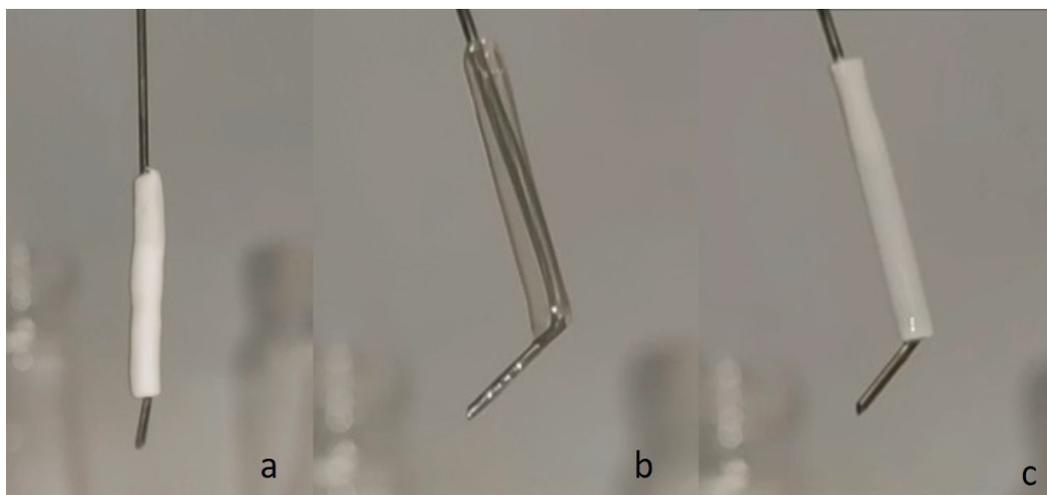


Fonte: Autoria própria.

As médias geométricas das áreas normalizadas dos analitos para os DES avaliados são apresentados na Figura 10. É possível verificar que, quando comparado à membrana sem solvente, todos os DES extraíram quase todos os analitos enquanto a membrana sem solvente extraiu 4 de 11, indicando que a presença dos DES é essencial para a extração. Quando comparado os DES entre si, o solvente constituído de timol e cânfora apresentou a maior eficiência de extração de modo geral. Isso pode ser atribuído às interações que podem acontecer com a estrutura das moléculas presentes no DES T:CANF (forças de dispersão, dipolo-dipolo, e ligações de hidrogênio) e a ao fato de que os demais DES todos apresentam uma cadeia muito longa em um dos componentes podendo dificultar a interação e o transporte dos analitos pela membrana. O DES também favoreceu a extração dos analitos que que seriam mais hidrofílicos (com menores Log P) e tenderiam a ser mais difícil de retirar da fase aquosa (MeP, BPF, EtP, PrP, BuP), como visto na Tabela 5. Os cromatogramas relativos a extração dos analitos, nos seus respectivos comprimento de ondas avaliados, com o DES T:CANF se encontram nas figuras A2-A7 nos anexos.

Foi observado que, quando em contato com o DES, a membrana de polipropileno se tornava transparente, sendo possível garantir que o solvente impregnou completamente na membrana (Figura 11a e 11b).

Figura 11: Mudança no aspecto visual da membrana ao entrar em contato com diferentes solventes durante o processo de extração (a) membrana pura, (b) após impregnada ao DES e (c) após dessorvida em acetona:metanol.



Fonte: Autoria própria.

5.3.2 Otimizações

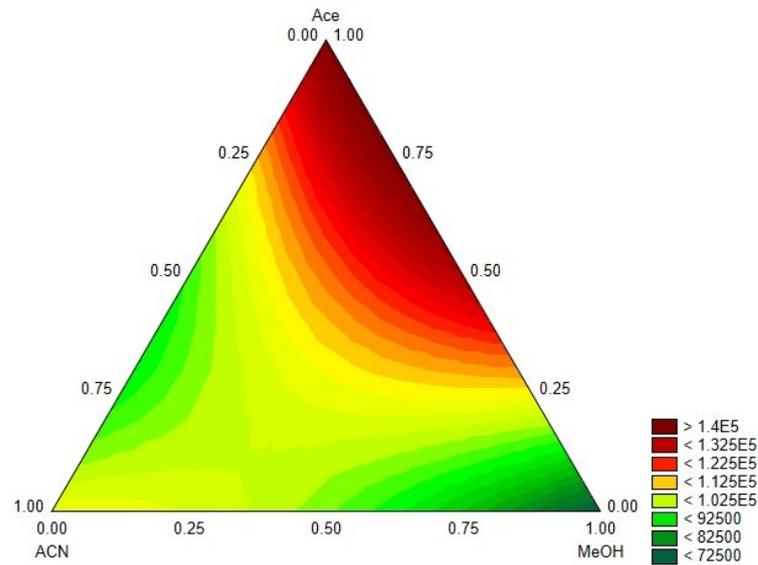
Escolher as melhores condições para extração e dessorção é um passo crucial quando se desenvolve uma metodologia, especialmente quando se lida com analitos a nível traço. A otimização garante que a maior quantidade de analitos seja extraída, diminuindo assim, os limites da técnica.

5.3.2.1 Parâmetros de dessorção

O primeiro parâmetro otimizado foi a composição do solvente de dessorção, feita a partir de um planejamento *simplex-centroide*. A partir dos resultados dos 12 experimentos, foi construída uma superfície ternária que variou as concentrações de acetonitrila, metanol e acetona. Os solventes escolhidos nessa etapa foram baseados na compatibilidade com o instrumento analítico e na solubilidade dos componentes individuais do DES T:CANF.

A superfície de resposta ($R^2= 0,8931$) apresenta uma clara região de máximo em 75% de acetona e 25% de metanol (Figura 12). Essa mistura teve a força necessária para remover o DES T:CANF da fibra oca e corrobora com estudos de solubilidade feitos de cânfora (CHEN et al., 2019) e timol (ZHU et al., 2016), que mostra uma alta solubilidade de cânfora em acetona e de timol em álcoois. Além disso, a membrana que fica transparente ao contato com o DES T:CANF, retorna a sua cor normalmente quando em contato com o solvente de dessorção, confirmando que o solvente impregnado foi removido pelo solvente de dessorção (Figura 11b e 11c).

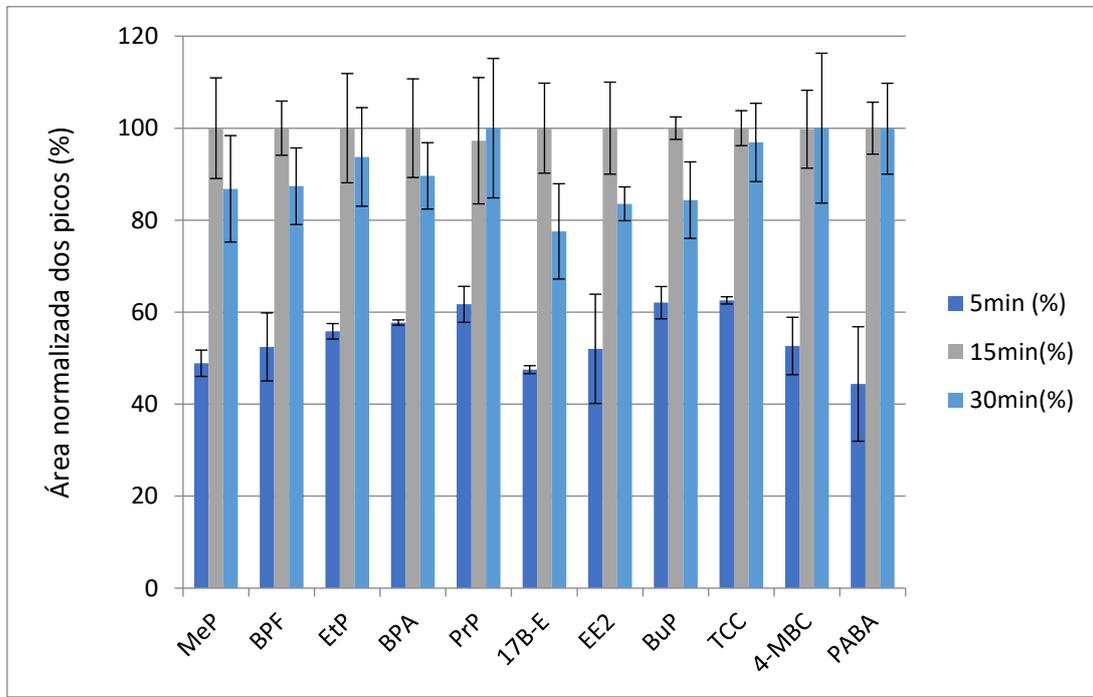
Figura 12: Superfície de resposta da otimização para o solvente de dessorção. Condições fixadas: Extração: 1,5 mL de UPW, fortificado a $200 \mu\text{g L}^{-1}$ e 1 hora de extração. Dessorção: 30 minutos e $300 \mu\text{L}$ do solvente.



Fonte: Autoria própria.

O tempo de dessorção também foi otimizado. Na figura 13 é apresentada a resposta normalizada para os analitos nos tempos estudados (5, 15 e 30 min). Para a maioria dos analitos, 15 min foi o tempo necessário para a dessorção. Tempos muito longos podem fazer com que os analitos sejam extraídos de volta pela membrana, e, mesmo não tendo uma eficiência de extração boa, ela ainda pode extrair analitos, o que poderia explicar o fato da maioria dos analitos apresentarem valores menores para 30 min.

Figura 13: Otimização do tempo de dessorção para o procedimento proposto. Condições fixadas: Extração- 1,5 mL de UPW, fortificado a $200 \mu\text{gL}^{-1}$ e 1 hora. Dessorção- 300 μL de ACE:MeOH (3:1).

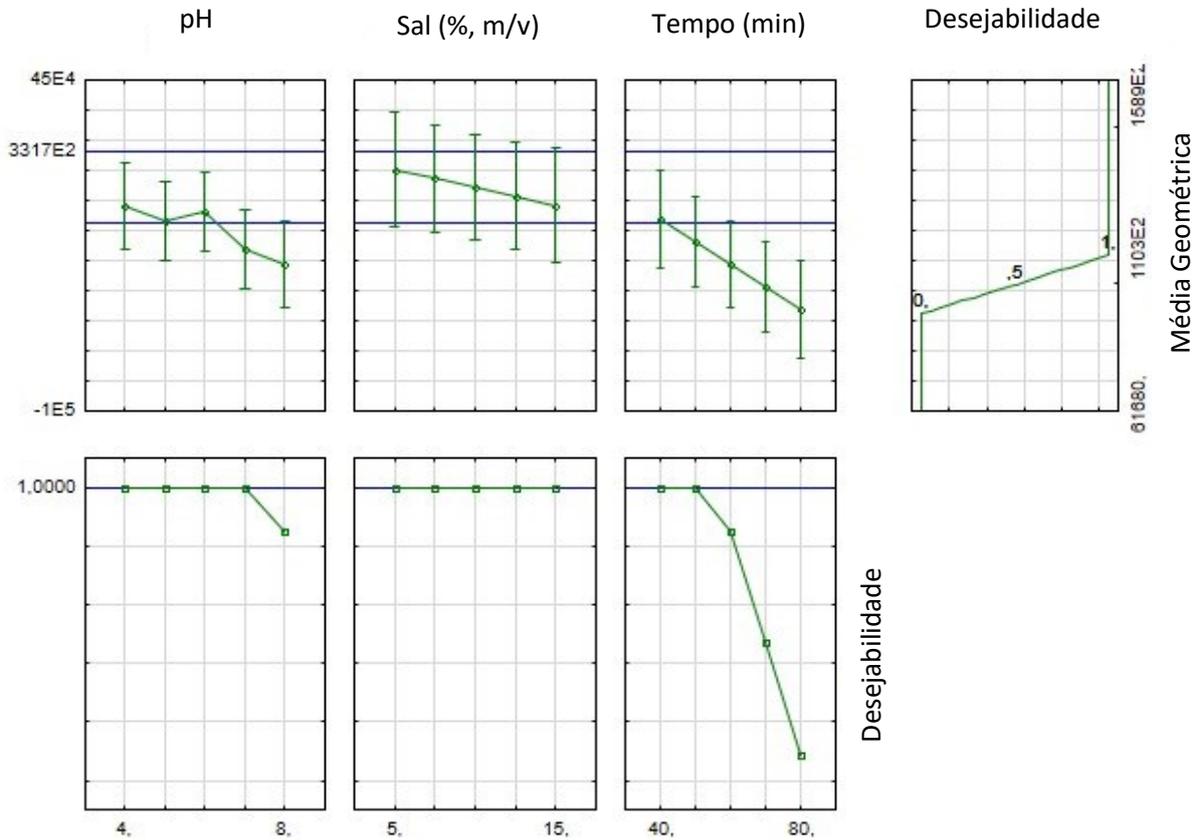


Fonte: Autoria própria.

5.3.2.2 Parâmetro de extração

Seguindo a otimização dos parâmetros de dessorção, os parâmetros de extração foram definidos. Um planejamento fatorial 2^3 foi usado para avaliar tempo de extração, % de sal e pH. Os resultados mostraram que a presença de sal não é significativa na extração. Tempo de extração e pH apresentaram maiores respostas quando tendendo a menores tempo e valores de pH, como pode ser visto nos gráficos de predição de valores e desejabilidade (Figura 14). A desejabilidade calculada para cada parâmetro recebe um valor entre 0 e 1, 1 sendo valor mais desejável e 0 sendo o menos desejável. Também pode ser avaliado pela desejabilidade global que avalia os parâmetros juntamente.

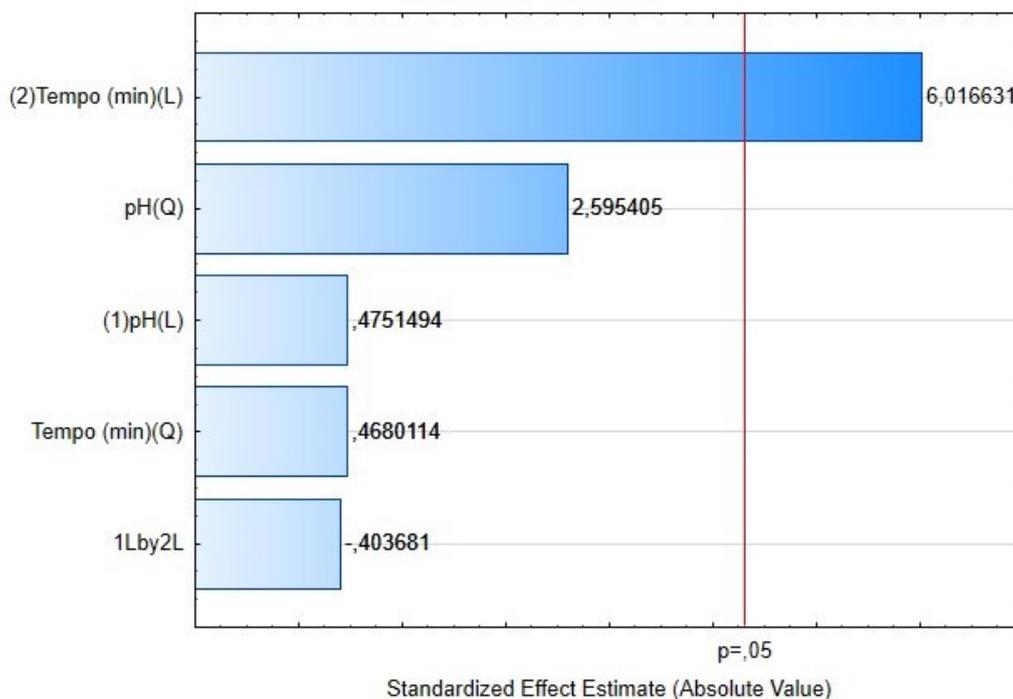
Figura 14: Gráficos de predição e desejabilidade para os parâmetros de extração tempo (40-80 min), pH (4-8) e porcentagem de sal (5-15%). Condições fixadas: Extração-1,5 mL de UPW, fortificado a 200 $\mu\text{g L}^{-1}$. Dessorção- 300 μL de ACE:MeOH (3:1) e 15 min.



Fonte: Autoria própria.

Com essas informações, um planejamento Doehlert foi feito em faixas menores, para melhor identificar as condições de extração para o tempo e pH. A Figura 15 mostra o gráfico de Pareto obtido. Nesse intervalo, as melhores respostas foram obtidas tendendo a tempos maiores, então o maior tempo avaliado foi escolhido, 50 min. O pH não demonstrou nenhuma diferença significativa, sendo assim o pH 6 foi selecionado.

Figura 15: Gráfico de Pareto para o tempo e pH da extração. Condições fixadas: Extração- 1,5 mL de UPW, fortificado a $300 \mu\text{g L}^{-1}$. Dessorção- $300 \mu\text{L}$ de ACE:MeOH (3:1).



Fonte: Autoria própria.

5.3.2.3 Procedimento DES/HF-MMLLE otimizado

A membrana de polipropileno foi cortada em fibras de 1 cm e impregnada com $400 \mu\text{L}$ de um DES composto de timol: cânfora (1:1, fração molar) por 10 min. A membrana impregnada foi imersa em 1,5 mL e uma amostra aquosa pH 6 por 50 min para a extração dos analitos. Após, a membrana foi imersa nos poços de dessorção contendo $300 \mu\text{L}$ de solvente de dessorção, uma mistura composta por acetona: metanol (3:1, v/v), por 15 min.

5.3.3 Parâmetros analíticos de mérito

Após a determinação dos parâmetros otimizados, o procedimento passou por um processo de validação interno. Água ultrapura foi fortificada em diferentes concentrações e submetida aos passos de extração/dessorção. Os parâmetros analíticos de mérito foram obtidos e são apresentados na Tabela 10.

Tabela 10: Faixa linear, limite de detecção, limite de quantificação, e coeficiente de determinação para cada analito.

Analitos	Faixa Linear ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LOD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LOQ ($\mu\text{g L}^{-1}$)	R²
MeP	20-400	6,1	20	0,9973
BPF	10-300	3,0	10	0,9986
EtP	5-200	1,5	5	0,9974
BPA	5-400	1,5	5	0,9988
PrP	1-200	0,3	1	0,9991
17-BE	20-300	6,1	20	0,9937
EE2	1-400	0,3	1	0,9963
BuP	5-400	1,5	5	0,9920
TCC	1-300	0,3	1	0,9946
4-MBC	1-200	0,3	1	0,9989
OD-PABA	1-300	0,3	1	0,9906

Fonte: Autoria própria

No geral, a faixa linear obtida foi de 1 a 20 $\mu\text{g L}^{-1}$, para valores iniciais, e de 200 a 400 $\mu\text{g L}^{-1}$, para valores máximos. O LOD para PrP, EE2, TCC, 4-MBC e OD-PABA foi 0,3 $\mu\text{g L}^{-1}$; para EtP, BPA e BuP foi 1,5 $\mu\text{g L}^{-1}$; para o BPF 3,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ e para MeP e 17-BE, 6,1 $\mu\text{g L}^{-1}$. Os coeficientes de determinação variaram de 0,9906 a 0,9991, mostrando um bom ajuste ao modelo linear.

Tabela 11: Precisão interdia e intradia e recuperação relativa para os analitos os contaminantes emergentes em amostras de água.

Analitos	Precisão Intradia (%), n=3			Precisão Interdia (%), n=9			Recuperação Relativa (%)					
							Água da torneira			Água do córrego		
	10µg L ⁻¹	50µg L ⁻¹	200 µg L ⁻¹	10µg L ⁻¹	50 µg L ⁻¹	200 µg L ⁻¹	10µg L ⁻¹	50 µg L ⁻¹	200 µg L ⁻¹	10 µg L ⁻¹	50 µg L ⁻¹	200 µg L ⁻¹
MeP	-	14,5	6,7	-	10,3	17,8	-	100	123	-	77	78
BPF	8,4	2,8	6,4	21,3	19,7	10,3	72	72	98	64	75	86
EtP	12,2	6,1	8,3	12,5	12,6	5,3	100	116	118	101	95	75
BPA	1,6	8,1	4,9	8,1	11,2	9,6	106	96	82	120	100	74
PrP	10,6	3,0	2,4	8,6	6,7	7,4	101	107	111	104	90	83
17-BE	-	17,2	4,3	-	20,5	16,5	-	83	100	-	73	91
EE2	8,7	11,3	7,6	11,1	10,3	8,8	107	73	83	80	69	74
BuP	10,8	3,6	5,4	8,4	5,0	6,6	89	121	111	105	81	74
TCC	9,7	11,6	9,5	10,8	16,3	17,4	85	86	95	86	82	71
4-MBC	2,9	8,3	6,3	11,1	14,8	17,2	120	104	123	104	92	105
OD-PABA	6,4	18,4	8,3	7,5	10,7	19,6	88	96	105	-	105	95

Fonte: Autoria própria

As recuperações relativas, em 3 diferentes níveis de concentração, são apresentadas na Tabela 11. Os resultados variaram entre 64% e 123%, indicando que a metodologia desenvolvida pode ser aplicada a diferentes amostras de água. Os resultados para precisão intradia, interdía e recuperações relativas, estão de acordo com os valores recomendados para o desempenho de métodos pela AOAC (*Association of Official Analytical Chemists*) (LATIMER, 2016). Os analitos estudados nesse trabalho são classificados como contaminantes emergentes e vários ainda não possuem uma legislação relevante (NAIDU et al., 2016). As amostras analisadas nesse trabalho, através dos ensaios de recuperação, não apresentaram nenhum dos analitos na concentração acima dos limites do método.

5.3.4 Comparação com metodologias já publicadas na literatura

A comparação dessa metodologia com outros trabalhos publicados na literatura é apresentada na Tabela 12. Quando comparamos os limites, alguns dos valores de LOD não são tão baixos como alguns dos trabalhos da literatura, porém, a diferença no modo de cálculo dos limites limita uma comparação direta pois alguns autores adotam uma abordagem puramente estatística comumente diminuindo seus valores de LOD. Esse estudo ainda possui uma abordagem multiclasse, mostrando que o método pode abranger diferentes classes de contaminantes. O método apresenta um tempo de preparo por amostra muito inferior aos demais publicados, devido a possibilidade de acoplamento com o sistema 96 poços profundos. Esse método não apresenta a necessidade de uso de derivatizantes e utiliza uma pequena quantidade de solventes orgânicos. A síntese do DES é de baixo custo, rápida e fácil e tem um consumo total de reagentes, não deixando nenhum resíduo, que é a maior vantagem sobre os líquidos iônicos.

Tabela 12: Comparação das metodologias apresentadas na literatura e a metodologia proposta para determinação de contaminantes emergentes em água.

Analitos	Matriz	Instrumento	Tempo de preparo de amostra (por amostra)	LOD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Referência
MeP, EtP, PrP, ArP	Água	HPLC-UV/MNP@DC193C	10 min	2,4-6,3	(ARIFFIN et al., 2019)
MeP, EtP, PrP, 17-BE, EE2, [...]	Água residual	UHPLC/SPE-Oasis HLB	(-)	7,5-15	(SHAABAN; GÓRECKI, 2012)
MeP, EtP e TCC	Água	HPLC-DAD/BAuE	90 min	0,5-6,5	(DIAS et al., 2015)
4-MBC, OD-PABA, [...]	Água	LC-UV/IL-SDME	37 min	0,06-0,07*	(VIDAL et al., 2010)
BPA, BPF, MeP, EtP, PrP, BuP, TCC, [...]	Urina	LC-MS/MS / AALLME	10 min	0,01-0,08*	(ROCHA; DE OLIVEIRA; BARBOSA, 2018)
MeP, EtP, PrP, BuP, BPA, BPF, EE2, 17-BE, TCC, 4-MBC e OD-PABA	Água	HPLC-DAD/ DES-HF-MMLE	0.78 min	0,3-6,1	Este estudo

*cálculo feito pela relação ruído/sinal.

5.4 CONCLUSÕES PARCIAIS

Pela primeira vez, um solvente eutético profundo natural hidrofóbico foi aplicado numa técnica baseado no uso de membrana. A metodologia proposta foi otimizada com sucesso e validada internamente para 11 contaminantes emergentes de diferentes classes, mostrando a

versatilidade do método. O procedimento minimizou a quantidade de solvente orgânico utilizado, usando apenas 300 µL na etapa de dessorção. A possibilidade de acoplamento com o sistema 96 poços de amostragem agrega a vantagem de 96 preparos de amostra simultâneos, reduzindo consideravelmente o tempo de preparo, 0,78 min para cada amostra (quando 96 extrações são feitas). DES são excelentes substitutos para solventes comumente utilizados e quando combinados com as técnicas de microextração, são uma ótima maneira para se alinhar aos conceitos da química analítica verde. A maior limitação encontrado foi relativo ao sinal dos DES no cromatograma devido ao uso do DAD como detector. Equipamentos com a possibilidade da criação de janelas que excluíssem os tempos referentes aos compostos do DES do cromatograma e até o uso de detectores mais sensíveis como o massas provavelmente fariam com que a detecção e quantificação dos analitos fosse facilitada e limites menores pudessem ser obtidos.

CAPÍTULO VI - DETERMINAÇÃO DE FTALATOS EM ÁGUAS SABORIZADAS GASEIFICADAS UTILIZANDO DES BASEADO EM ÁCIDOS GRAXOS

6.1 INTRODUÇÃO

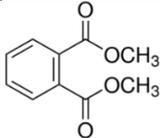
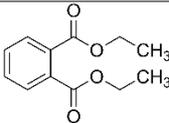
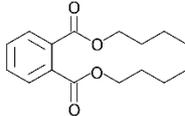
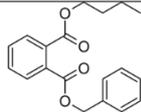
Águas saborizadas gaseificadas são usualmente constituídas de água, açúcar, dióxido de carbono, um ácido e um componente flavorizante. Elas são comercializadas em garrafas plásticas, essas quais podem ser uma fonte de contaminação. Compostos prejudiciais à saúde do consumidor podem migrar da embalagem para os alimentos. Esses compostos, chamados de substâncias adicionadas não intencionalmente (NIAS), podem surgir da interação entre diferentes ingredientes nos materiais da embalagem, de processos de degradação e principalmente das impurezas presentes na matéria prima utilizada. Ésteres de ácido ftálico são exemplos desses contaminantes e, por apresentarem toxicidade em animais em laboratório, são objetos de estudo de diversos pesquisadores que avaliam seus efeitos na saúde humana (LUO et al., 2018; NERIN et al., 2013).

Os ftalatos são utilizados como plastificantes e afetam diretamente a flexibilidade de materiais, como por exemplo, as garrafas plásticas. Quando aplicados, eles não estão ligados quimicamente ao polímero, o que torna possível a migração desses compostos para o conteúdo interno. A principal forma de exposição dos ftalatos se dá pelos alimentos e eles já foram reportados em água, leite, peixe, alimentos para bebês, bebidas e outros alimentos (GONZÁLEZ-SÁLAMO; SOCAS-RODRÍGUEZ; HERNÁNDEZ-BORGES, 2018; KAPPENSTEIN et al., 2012; SALAZAR-BELTRÁN et al., 2018).

Os principais fatores que afetam a migração dos ftalatos são temperatura, tempo, intensidade do sol, pH e tamanho da garrafa. Em um levantamento realizado por Luo et al. (2018) mostrou que ftalatos já foram reportados em mais de 300 marcas de água em garrafas de plástico mundialmente. Dentro dos estudos relatados, dibutilftalato (DBP) foi encontrado em 67,6%, di-2-(etilhexil)ftalato (DEHP) em 61,7%, dietilftalato (DEP) em 47,1%, benzilbutilftalato (BBP) em 36,9% e dimetilftalato (DMP) em 30,1% (LUO et al., 2018).

Esse capítulo propõe o uso de NADES aplicados a HF-MMLLE e ao sistema 96poços profundos para a determinação de quatro ésteres de ácido ftálico: DMP, DEP, DBP e BBP em águas saborizadas gaseificadas por HPLC-DAD seguindo o mesmo formato proposto no capítulo anterior, porém com um maior número de solventes testados. A Tabela 13 traz a estrutura química e o log K_{ow} dos analitos.

Tabela 13 Estruturas e Log Kow dos ftalatos analisados no segundo projeto.

Analito	Estrutura	Log
	Química	K_{ow}
Dimetilftalato		1,61
Dietilftalato		2,38
Dibutilftalato		4,45
Benzilbutilftalato		4,59

Fonte:LUO et al., 2018

6.2 MATERIAIS E MÉTODOS

6.2.1 Materiais

Águas saborizadas gaseificadas de 4 marcas e 4 diferentes sabores (limão, tangerina e capim-limão, abacaxi e uva verde e lima & limão) foram adquiridas de supermercados locais em Florianópolis, SC. Todas elas, foram transferidas para frascos de vidro e armazenadas em refrigeradores. Previamente ao uso, foram homogeneizadas e degaseificadas em banho ultrassônico por 30 min e, em seguida, o pH foi medido.

Padrões analíticos de DMP, DEP, DBP e BBP foram obtidos da Sigma-Aldrich Co. (St. Louis, MO, USA). Metanol (MeOH) e acetonitrila (ACN) com >99.8% de pureza foram adquiridos da Merck (Ke-nilworth, NJ, USA.). Água ultrapura (UPW) (18.2 MΩcm⁻¹) foi obtido pelo sistema de purificação Mega Purity (Billerica, MA, USA). Membrana ocas de polipropileno PP300/1200 Accurel® (diâmetro interno 1,2 mm, 300 mm de grossura e tamanho de poro de 0,2 μm) foram obtidas da Membrane (Wuppertal, Germany).

6.2.2 Instrumentos

O cromatógrafo e a coluna utilizada foram os mesmos descritos na seção 5.2.2. Um gradiente com ACN (A) e UPW(B) foi utilizado para a separação cromatográfica: iniciando com 45% de A (0,01 a 2,5 min); fase A aumenta para 80% (2,51 a 7 min) e mantida por 1 min; fase A aumenta para 100% (8,01 a 25 min); após, fase A diminui para 45% voltando a condição inicial (25,01 a 30 min). Os analitos foram monitorados em 200 nm nos seguintes tempos de retenção: 6,1 min para o DMP, 9,8 min para o DEP, 13,7 min para o DBP e 14,1 min para o BBP.

O sistema 96 poços de amostragem utilizado foi obtido da PAS Technologies Inc. (Bruder Mannesmann Werkzeuge, Remscheid, Germany).

6.2.3 Metodologia

6.2.3.1 *Triagem dos DES*

O solvente extrator foi analisado de maneira univariada. Foram realizadas extrações em triplicata e construídos gráficos de barras com as médias das áreas dos picos normalizadas para análise dos resultados. Para a determinação do solvente extrator foram utilizados os DES de número 1 a 22 (de acordo com a Tabela 3). Foram escolhidos os ácidos carboxílicos de cadeias maiores, ácido decanóico e dodecanóico, timol e cânfora como um dos compostos enquanto o segundo componente do DES foi variado entre os ácidos carboxílicos de 6 a 10 carbonos, também o ácido levulínico e a cumarina. O procedimento de extração seguiu a mesma metodologia do item 5.2.4.1, com a diferença apenas de que a concentração usada foi de 200 $\mu\text{g L}^{-1}$. Após a escolha do melhor solvente também foram avaliadas diferentes proporções dos componentes (1:1, 1:2, 2:1 e 3:2), os resultados também foram avaliados a partir do gráfico de barras.

6.2.3.2 *Otimização dos Parâmetros*

Os tempos de extração e dessorção foram avaliados de maneira univariada em triplicata, e com a média das áreas, plotado um gráfico de barras. O tempo de extração foi variado nos tempos 30, 45, 60 e 75 min e o tempo de dessorção 5, 15, 30 e 45 min. O solvente de dessorção foi avaliado a partir de um planejamento *simplex-centroide* utilizando acetonitrila, acetato de etila e metanol. Os experimentos e as devidas proporções volumétricas são apresentados na Tabela 14.

Tabela 14: Proporções volumétricas utilizadas no planejamento *simplex-centroide* para a otimização do melhor solvente de dessorção para os ftalatos

	ACN (μL)	MeOH (μL)	AcEt (μL)
1	100	100	100
2	0	300	0
3	150	0	150
4	0	150	150
5	0	0	300
6	100	100	100
7	50	200	50
8	200	50	50
9	150	150	0
10	50	50	200
11	300	0	0
12	100	100	100

Fonte: Autorial própria

6.2.3.3 Validação da Metodologia Proposta

As curvas de calibração foram obtidas a partir da matriz sem a presença dos analitos, e fortificadas com diferentes concentrações dos analitos em cinco níveis ($n=3$). O limite de quantificação (LOQ), foi determinado como o primeiro ponto da faixa linear da curva; o limite de detecção (LOD) como $\text{LOQ}/3,3$. Coeficientes de determinação (R^2) e faixa linear foram obtidas a partir das curvas de calibração. Precisão intradia ($n=3$) e interdia ($n=9$) foram definidas a partir do desvio padrão relativo entre as medidas (RSD). Recuperações relativas, calculadas relativas à concentração inicial da amostra, foram avaliadas através de extrações, feitas com o método otimizado, em uma marca diferente da qual o método foi otimizado nas concentrações de 25, 100 e 250 $\mu\text{g L}^{-1}$. Após a metodologia foi utilizada para a análise de 4 diferentes águas saborizadas gaseificadas.

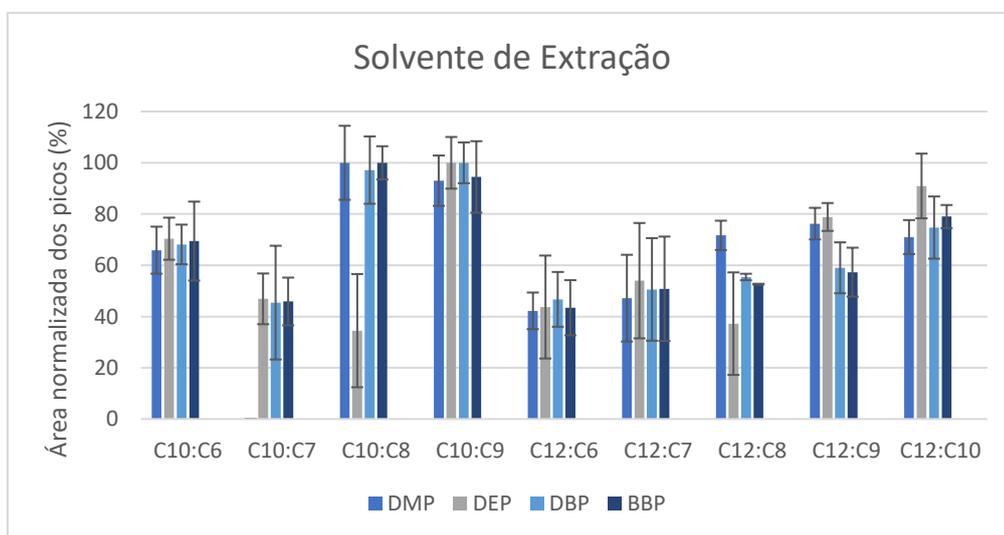
6.3 RESULTADOS

6.3.1 Escolha do solvente de extração

Primeiramente foram avaliadas as diferentes composições dos DES na extração dos ftalatos. Os DES que continham timol e cânfora, apresentaram picos que atrapalhavam na visualização dos picos dos analitos e se espalhavam por diferentes comprimentos de onda impossibilitando que outro comprimento de onda fosse usado. Devido a necessidades de mudança nos parâmetros da separação para cada solvente, foram considerados apenas os que

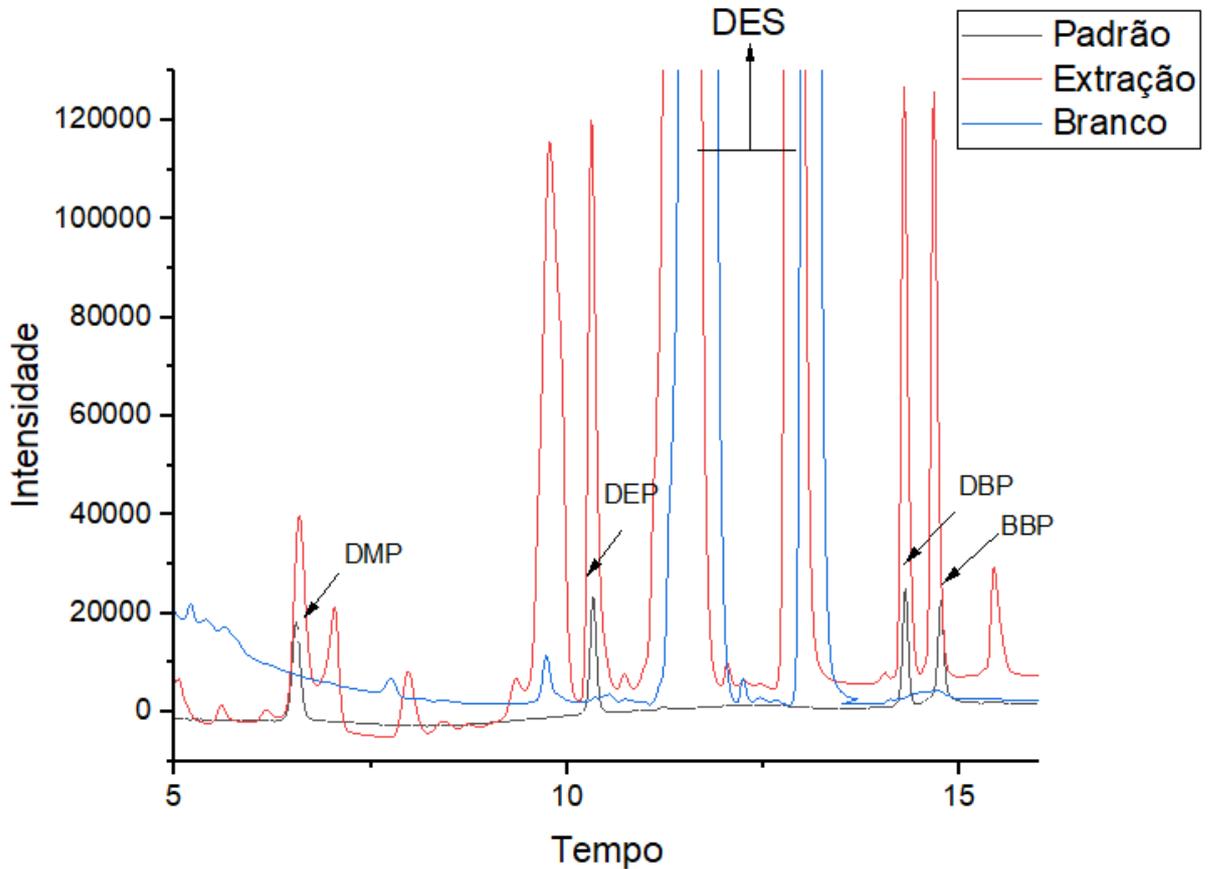
não interfeririam no cromatograma dos analitos. Por esse motivo, apenas os resultados obtidos para os DES compostos de ácidos graxos são apresentados. A figura 16 traz o gráfico normalizado das áreas dos picos para extração de cada analito com os diferentes solventes. De uma maneira geral, é possível perceber que os DES que possuíam o ácido decanóico como primeiro componente obtiveram uma melhor extração que o ácido dodecanóico. Uma possível explicação seria uma transferência de massa mais dificultada dentro do DES com ácido dodecanóico devido a sua maior viscosidade quando comparado aos de ácido decanóico. Já para o segundo componente é possível perceber um aumento na eficiência de extração com o aumento da cadeia, ficando bem aparente nos DES com ácido dodecanóico. A tendência fica interrompida nos DES de ácido decanóico devido a um alargamento dos picos do solvente com ácido heptanóico. O DES composto de ácido decanóico e ácido nonanóico (C10:C9) foi escolhido como solvente de extração. Na Figura 17 é apresentado um cromatograma do comparativo entre a injeção direta do padrão, a extração com o DES selecionado e o branco.

Figura 16: Comparação da eficiência de extração dos DES de ácidos graxos. Condições fixadas: 1,5 mL de amostra fortificada em 200 $\mu\text{g L}^{-1}$; 1 hora de extração; dessorvido em 300 μL de ACN:MeOH.



Fonte: Autoria própria.

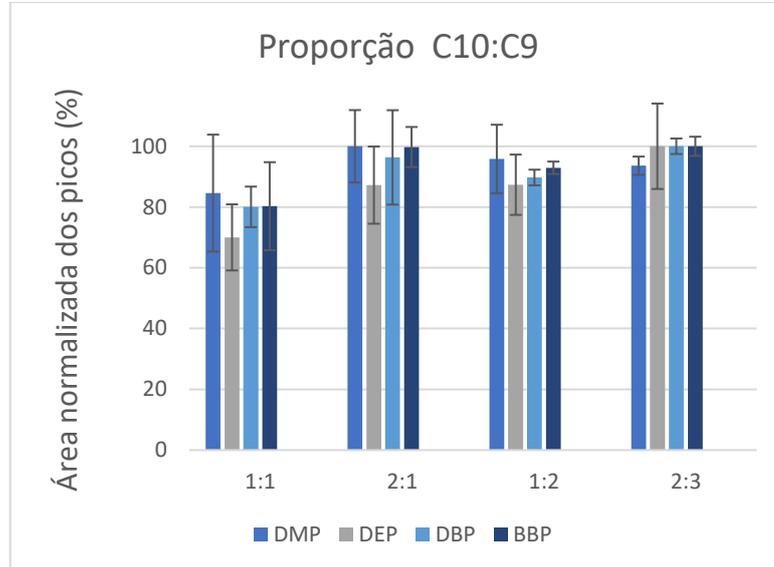
Figura 17: Cromatograma comparativo entre injeção direta dos padrões, extração ($200 \mu\text{g L}^{-1}$) e o branco da matriz utilizada.



Fonte: Autoria própria.

Nesse segundo trabalho, visando abranger uma maior gama de parâmetros, também foram avaliadas diferentes proporções de C10:C9. A figura 18 mostra o gráfico de barras normalizadas para as diferentes proporções. A proporção contendo duas partes de ácido decanóico e três partes de ácido nonanóico foi a que apresentou maior eficiência de extração sendo escolhido para aplicação da metodologia. Utilizando ANOVA e teste de Tukey foi possível verificar que para o DMP não houve diferença significativa entre os resultados obtidos (95%, $p = 0,6334$). Para o DEP, DBP e BBP se observou diferença significativa entre as proporções 2:3 e 1:1 com valores de p igual a 0,0444, 0,0105 e 0,0238 respectivamente para um intervalo de 95% de confiança. Esse resultado pode ser explicado pelo fato de que a mistura 3:2 ser a mais hidrofóbica de acordo com os dados obtidos pelo ângulo da gota apresentados em 4.3.2, favorecendo a extração dos analitos.

Figura 18: Comparação da eficiência de extração das diferentes proporções do DES composto de ácido nonanóico e decanóico. Condições fixadas: 1,5 mL de amostra fortificada em 200 $\mu\text{g L}^{-1}$; 1 hora de extração; dessorvido por 30 min em 300 μL de ACN:MeOH.

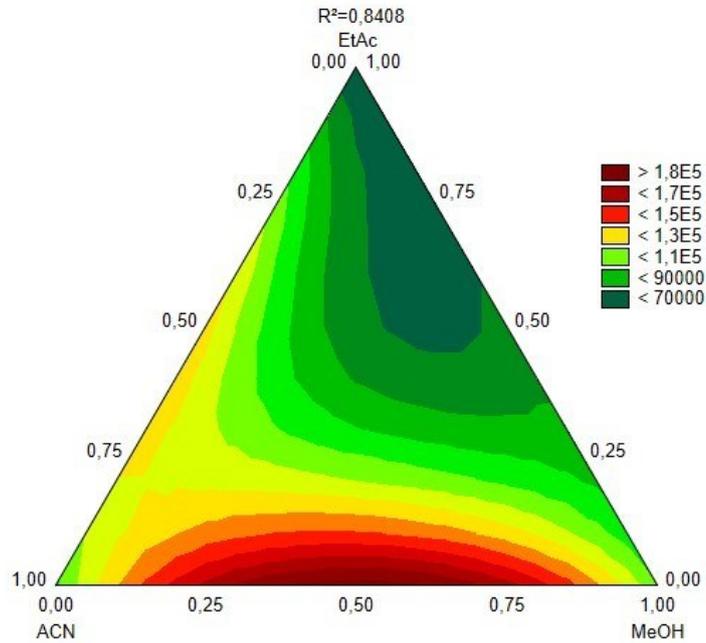


Fonte: Autoria própria.

6.3.2 Otimização dos parâmetros da metodologia

Visando uma melhor avaliação dos parâmetros, a primeira otimização foi a do solvente de dessorção. O solvente de dessorção é o responsável por retirar o DES da membrana e precisa estar adequado ao equipamento de análise. A superfície ternária gerada com o planejamento (Figura 19) apresenta um R^2 de 0,8408 e um ponto de máximo em na mistura binária (1:1) de acetonitrila e metanol. A mistura é justificável devido as características do solvente eutético escolhido que é composto por ácidos carboxílicos de cadeia longa e apresentam boa solubilidade em solventes orgânicos, e diferente dos ácidos carboxílicos de cadeia curta, baixa solubilidade em água.

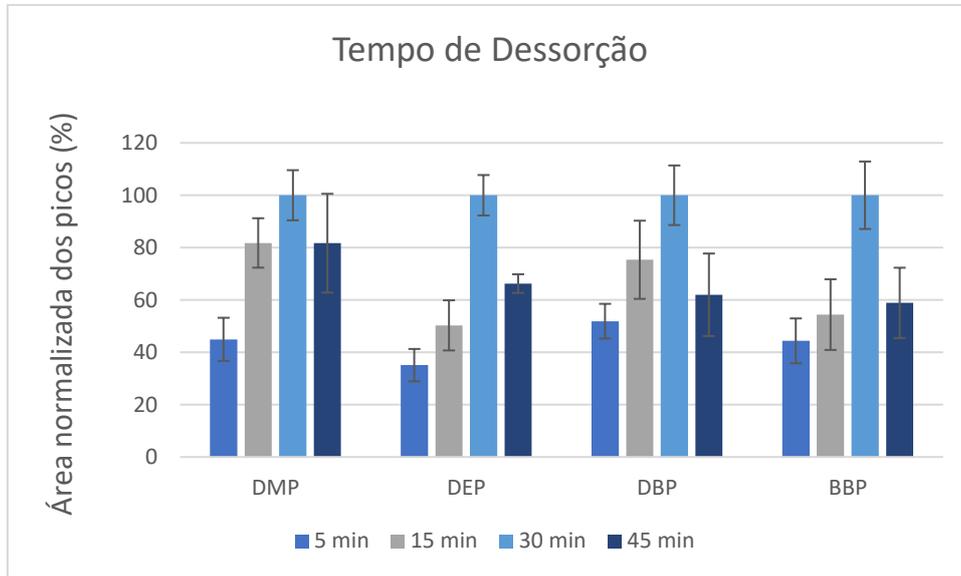
Figura 19: Superfície ternária para a dessorção dos ftalatos. Condições fixadas: 1,5 mL de amostra fortificada 200 µg L⁻¹; 1 hora de extração e 30 min de dessorção.



Fonte: Autoria própria.

A otimização do tempo de dessorção, que foi feita de maneira univariada, gerou o gráfico de barras normalizada (Figura 20). O tempo de resposta máxima foi obtido no tempo de 30 min, verificando-se que para todos os analitos um decaimento no sinal após 30 min. Possivelmente devido ao uma *back extraction* dos analitos do solvente de dessorção e dos DES para a membrana.

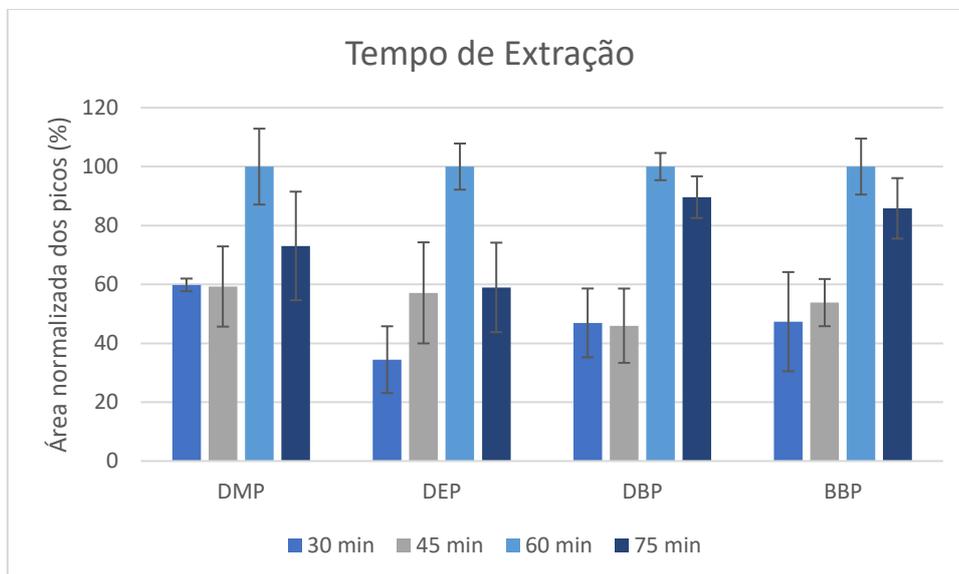
Figura 20: Gráfico de barras para o tempo de dessorção. Condições fixadas: 1,5mL de amostra fortificada 200 $\mu\text{g L}^{-1}$; 1 hora de extração e dessorvido em 300 μL de ACN:MeOH (1:1).



Fonte: Autoria própria.

O tempo de extração, também avaliado de maneira univariada, apresentou um pico de máximo rendimento em 60 min. O fato das moléculas volumosas dos ftalatos terem que atravessar a membrana interagir com o DES composto de ácidos carboxílicos de cadeias com 9 e 10 carbonos pode justificar um tempo maior de extração quando comparado com o tempo de 50 min do capítulo anterior. A figura 21 apresenta o gráfico de barras normalizadas, onde também é possível verificar um decaimento de rendimento após 60 min.

Figura 21: Gráfico de barras para o tempo de extração. Condições fixadas: 1,5 mL de amostra fortificada $200 \mu\text{g L}^{-1}$; 1 hora de extração e dessorvido por 30 min em $300 \mu\text{L}$ de ACN:MeOH (1:1).



Fonte: Autoria própria.

6.3.3 Parâmetros analíticos de mérito

A partir do procedimento otimizado, foram construídas as curvas de calibração para cada analito. Os resultados são apresentados na tabela 15. As faixas lineares variam de maneira geral entre 10 e $500 \mu\text{g L}^{-1}$. Os limites de detecção e quantificação para o DMP, DEP e DBP foram de $7,6 \mu\text{g L}^{-1}$ e $25 \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente, e para o BBP foi $3,3 \mu\text{g L}^{-1}$ e $10 \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente. O R^2 variou de 0,9911 a 0,9994.

Tabela 15: Parâmetros analíticos de mérito da metodologia desenvolvida para a determinação de ftalatos.

Analitos	Faixa Linear de Trabalho ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LOD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LOQ ($\mu\text{g L}^{-1}$)	R ²	Equação Linear
DMP	25-375	7,6	25	0,9971	$y = 211,28x - 1729,5$
DEP	25-500	7,6	25	0,9994	$y = 424,17x + 14350$
DBP	25-250	7,6	25	0,9911	$y = 575,87x + 236,4$
BBP	10-250	3,3	10	0,9939	$y = 445,47x + 7854,8$

Fonte: Autoria própria

Os resultados das precisões intradia, interdia e recuperação relativa são apresentados na Tabela 16. A precisão intradia variou entre 2,2 e 18,6%, enquanto a precisão interdia variou entre 8,8 e 18,8% indicando uma boa repetibilidade da metodologia. A recuperação relativa, que foi realizada numa marca diferente, variou entre 82,4 e 113,5% mostrando uma boa reprodutibilidade da metodologia.

Tabela 16: Valores de precisão intradia, interdia e recuperação relativa da metodologia desenvolvida para determinação de ftalatos.

Analitos	Intradia (% ,n=3)			Interdia (% ,n=9)		Recuperação Relativa (%)		
	25 $\mu\text{g L}^{-1}$	100 $\mu\text{g L}^{-1}$	250 $\mu\text{g L}^{-1}$	100 $\mu\text{g L}^{-1}$	250 $\mu\text{g L}^{-1}$	25 $\mu\text{g L}^{-1}$	100 $\mu\text{g L}^{-1}$	250 $\mu\text{g L}^{-1}$
DMP	18,6	3,3	7,2	17,2	13,1	100,3	82,4	111,8
DEP	13,1	5,5	4,6	15,4	10,6	91,3	105,5	90,0
DBP	3,4	3,5	2,8	16,8	18,8	111,7	113,5	83,1
BBP	8,5	5,3	2,2	8,8	16,2	109,5	94,9	87,7

Fonte: Autoria própria

6.3.4 Análise de amostras

Foram analisadas 2 marcas diferentes e 4 diferentes sabores. Foram encontradas a presença dos 4 ftalatos, com destaque para o BBP que foi encontrado em todas as amostras analisadas podendo ser quantificado em 3 delas. Os resultados seguem o que vem sendo reportado na literatura para água em garrafas plásticas, com a presença da maioria das espécies de ftalatos sendo encontradas. Os cromatogramas das amostras se encontram na figura A8 nos anexos.

Tabela 17: Análise de diferentes marcas e sabores para a presença de ftalatos em bebidas saborizadas gaseificadas.

Marca	Sabor	DMP	DEP	DBP	BBP
1	Tangerina e Capim Limão	< LOD	72,6	<LOD	< LOQ
1	Limão	42,5	< LOD	< LOD	19,3
2	Abacaxi e Uva verde	53,0	< LOD	< LOD	16,7
2	Lima e Limão	<LOD	<LOD	<LOQ	18,0

Fonte: Autoria própria

6.3.5 Comparação com trabalhos já publicados na literatura

A Tabela 18 apresenta um comparativo com a metodologia desenvolvida e trabalhos já publicados na literatura. As metodologias descritas todas são realizadas uma amostra por vez, sem a possibilidade de múltiplas extrações simultâneas o que faz com que a metodologia analítica traga uma frequência analítica maior. Também, vale ressaltar a quantidade de etapas manuais envolvidas em técnicas como SPE e DLLME que fazem com que a possibilidade de erros proveniente do preparo de amostras seja maior. O tempo de preparo de amostra da metodologia, quando utilizado os 96 poços do sistema, é de 0,93 min, muito menor do que qualquer uma das metodologias descritas na literatura. Todos esses aspectos ainda oferecem limites equiparáveis as demais metodologias descritas.

Tabela 18: Tabela comparativa de diferentes metodologias para análise de ftalatos em bebidas.

Amostra	Analitos	Técnica	Instrumento	LOD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Tempo	Ref.
Bebidas	DMP, DBP, BBP, DPP, DCHP, DEHP e DOP	USVADLLME	HPLC-UV	0,019-0,208	8 min	(YILMAZ; ERTAŞ; KOLAK, 2014)
Bebidas gaseificadas	DEP, DMP, BBP, DBP, DNOP e DEHP	MSPE	GC-MS	12-25 $\eta\text{g L}^{-1}$	7min	(MOAZZEN et al., 2018)
Sucos de frutas	DMP, DEP e DAP	HF-LPME	HPLC-UV	0,3-0,5	40min	(YAMINI; ESRAFI; GHAMBARIAN, 2016)
Suco de laranja	DMP, DEP, DBP, BBP, DEHP e DOP	SPE	HPLC-UV	2,6-13,8	5min	(GUO et al., 2010)
Bebidas alcoólicas	DIBP, DBP, BBP e DEHP	IL-DLLME	HPLC-DAD	1,5-4,2	9min	(FAN; LIU; XIE, 2014)
Bebidas gaseificadas	DMP, DEP, DBP e BBP	DES-HF-MMLLE	HPLC-DAD	3,0-7,6	0,93 min	Esse estudo

Fonte: Autoria própria

6.4 CONCLUSÕES PARCIAIS

Uma nova metodologia “verde” foi desenvolvida e validada para a determinação de ftalatos em bebidas gaseificadas e aplicando os conceitos do preparo de amostra verde. A configuração previamente desenvolvida, mostrou-se aplicável também a amostras alimentícias, mostrando que o uso de DES pode ser difundido também nesse tipo de análise de uma maneira eficiente e de qualidade substituindo mais uma vez fases extratoras convencionais. A metodologia desenvolvida para a determinação de ftalatos utilizou como solvente extrator o DES composto apenas por ácidos carboxílicos, ambas gorduras de ocorrência natural. A impregnação do DES na membrana, acoplada ao sistema 96 poços profundos, mostrou-se mais

uma vez uma maneira inovadora de realizar o preparo de amostras reduzindo o tempo de contato do analista com os solventes e a amostra, diminuindo a quantidade de solvente utilizado e gerando uma quantidade muito pequena de resíduos durante o processo. Os erros também são minimizados durante o processo, comprovados pela boa precisão. Os resultados demonstram que a metodologia tem potencial para ser explorada ainda em novas matrizes.

CAPÍTULO VII - FORMAÇÃO *IN SITU* DE DES PARA A DETERMINAÇÃO DE NAPROXENO E BEZAFIBRATO EM AMOSTRAS DE ÁGUA

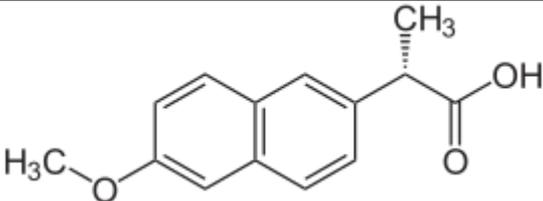
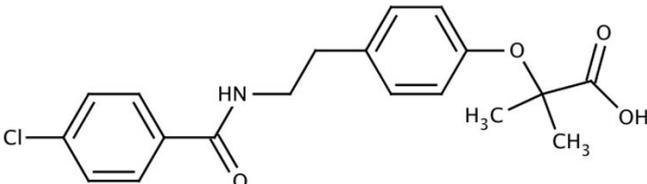
7.1 INTRODUÇÃO

Shishov et al. 2018 propuseram uma estratégia de extração baseando-se na formação dos DES. Partindo-se do princípio de que os analitos estudados se separariam da amostra pela formação *in situ* do DES formado pela ligação de hidrogênio entre a hidroxila presente no mentol e a carbonila presente nos anti-inflamatórios não esteroidais, eles desenvolveram uma metodologia baseada na solidificação da gota. Mentol era adicionado a amostra contendo cetoprofeno e diclofenaco e aquecido até o seu ponto de fusão. Após a homogeneização, a amostra era resfriada até 5 °C e a gota de mentol sólida era coletada, diluída em metanol e analisada por HPLC-UV. A formação de DES entre alguns compostos e ingredientes farmacêuticos, chamados de solventes eutéticos profundos terapêuticos (THEDES), vem sendo estudada e aplicada a liberação controlada de fármacos (AROSO et al., 2015; SHISHOV et al., 2018b).

A disseminação de produtos farmacêuticos e seus metabólitos em corpos d'água, migração com fluxos de água, efeitos na hidrobiota, bioacumulação e biomagnificação e, finalmente, a contaminação da água potável indicam a ameaça excepcional de poluição da água com poluentes farmacêuticos e fazem necessário o seu controle através de metodologias analíticas (TYUMINA et al., 2020).

Utilizando do princípio da formação dos THEDES, esse projeto utiliza a HF-LLMME juntamente com um sistema de 96 poços de amostragem automático e a possibilidade de aquecimento para a determinação de naproxeno (anti-inflamatório) e bezafibrato (hipolipemiante) em amostras de água. Informações referentes aos analitos escolhidos são apresentados na tabela 19.

Tabela 19: Estrutura, Log P e pKa para os analitos naproxeno e bezafibrato.

Analito	Estrutura	Log P	pKa
Naproxeno		3,39	4,19
Bezafibrato		3,99	3,83

Fonte: Drugbank Online

7.2 MATERIAIS E MÉTODOS

7.2.1 Materiais

Foram utilizados ácido levulínico (98%), ácido octanóico ($\geq 99\%$) e ácido decanóico (FCC, FG, $\geq 98\%$); padrões de naproxeno ($\geq 99\%$) e bezafibrato ($\geq 99\%$) todos obtidos da Sigma Aldrich (St. Louis, MO, USA). Metanol (MeOH) e cetonitrila (ACN) com $>99.8\%$ de pureza foram adquiridos da Merck (Kenilworth, NJ, USA.). Água ultrapura (UPW) ($18,2\text{M}\Omega\text{cm}^{-1}$) foi obtido pelo sistema de purificação Mega Purity (Billerica, MA, USA). Membrana ocas de polipropileno PP300/1200 Accurel® (diâmetro interno 1,2 mm, 300 mm de grossura e tamanho de poro de 0,2 μm) foram obtidas da Membrane (Wuppertal, Germany).

7.2.2 Instrumentos

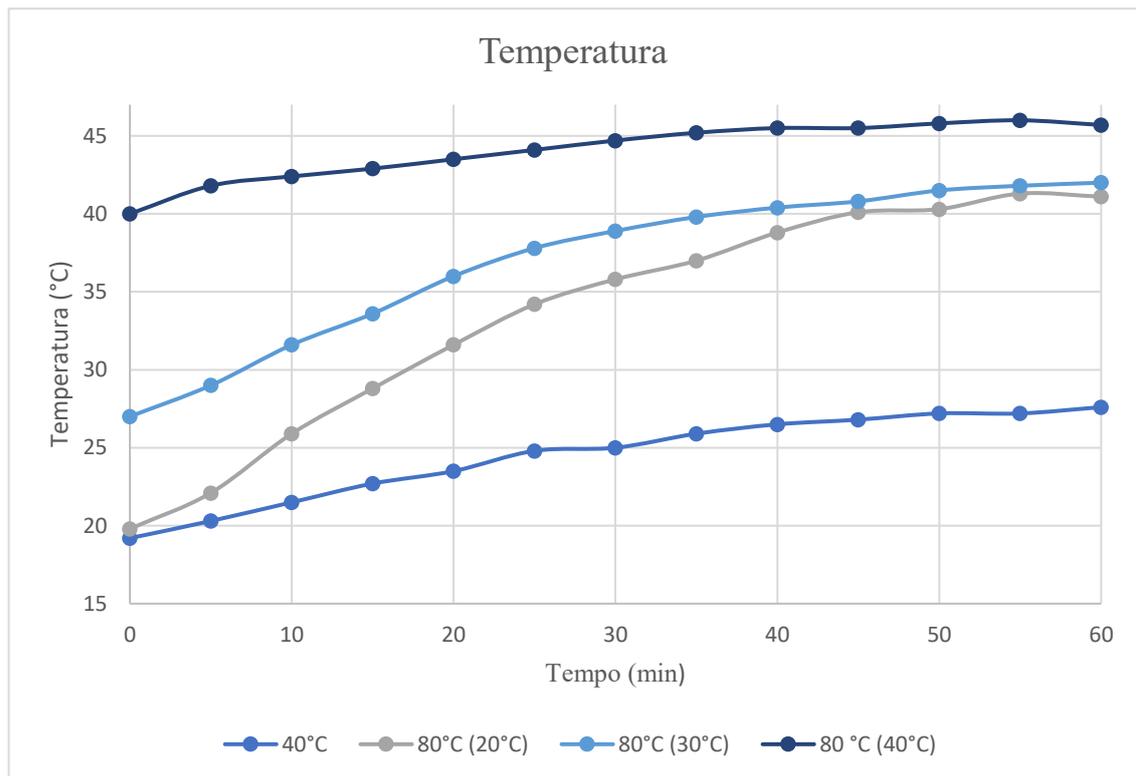
O cromatógrafo utilizado foi o mesmo descrito na seção 5.2.2. Foi utilizada uma coluna ZORBAX Eclipse Plus C18 (4,6 x 150 mm, 5-micron) da Agilent. A separação foi feita no modo isocrático durante 10 min com 35% de UPW/0,1% ác. fórmico e 65% de ACN e uma vazão de 0,7 mL min^{-1} . O naproxeno foi monitorado no comprimento de onda de 230 nm, no tempo de 4,2 min e o bezafibrato em 200 nm, no tempo de 3,8 min.

Um sistema 96 poços de amostragem automático com placa de aquecimento foi obtido da CAT Ingenieurbüro M. Zipperer GmbH (Ballrechten-Dottingen, Alemanha).

7.2.3 Procedimentos

Com o intuito de minimizar os erros causados por uma possível variação de temperatura foi feita uma calibração do equipamento. Com ela, foi possível verificar a temperatura real nos poços de extração e a variação de temperatura com o tempo. Foram comparadas duas temperaturas configuradas no equipamento (40 e 80°C) e diferentes temperaturas da amostra pelo intervalo de 60 min. Como é possível ver no gráfico apresentado na figura 22, a menor variação de temperatura ocorreu quando a temperatura da amostra se iniciava em 40°C e o equipamento marcava 80°C. Por esse motivo, foi adicionada uma etapa de aquecimento da amostra previamente ao procedimento de extração.

Figura 22: Gráfico relativo à temperatura do sistema de 96 poços de amostragem automático ao decorrer do tempo de 60 min.



Fonte: Autoria própria.

7.2.4 Metodologia

7.2.4.1 Triagem dos componentes do DES

A escolha dos compostos avaliados foi baseada nas limitações do equipamento em relação a temperatura. Com a temperatura máxima alcançada sendo de aproximadamente

45°C foram escolhidos compostos líquidos nessa temperatura pois eles teriam que ser impregnados na membrana e se manter líquido durante a extração. Foram escolhidos o ácido levulínico, ácido octanóico e ácido decanóico.

No equipamento foram programados a temperatura ambiente, 750 rpm e 5 min para a impregnação dos compostos na membrana (400 µL de cada). Para extração foi usado o poço maior onde eram adicionadas 1,5 mL de UPW na concentração de 200 µg L⁻¹ de cada analito. A extração foi fixada em 80°C, 750 rpm e 60 min e a dessorção feita a temperatura ambiente em 300 µL de ACN:MeOH, 750 rpm e 30 min. Um tampão acetato pH 3 foi utilizado para garantir que os analitos permanecessem na forma não ionizada.

7.2.4.2 Otimizações dos parâmetros

Foram otimizados a temperatura de extração (25 e 40°C), e o tempo de dessorção (15, 30 e 45 min) de maneira univariada com análises em triplicata construindo um gráfico de barras com as áreas normalizadas dos resultados.

O solvente de dessorção foi avaliado a partir de um planejamento *simplex-centroide*, utilizando acetonitrila, acetato de etila e metanol. Os experimentos e as devidas proporções volumétricas são os mesmos apresentados na Tabela 14.

Tempo de extração e a porcentagem de sal foram avaliadas utilizando um planejamento Doehlert com o tempo variando entre 30 e 90 min de extração e a porcentagem de sal de 0-10%. Com os resultados foi construído uma superfície de resposta. Ainda foi necessário a análise do tempo de extração de maneira univariada onde foi analisado o intervalo de 15-75 min em triplicata.

7.2.4.3 Validação da metodologia

As curvas de calibração foram obtidas a partir da UPW fortificada com diferentes concentrações dos analitos, foram avaliadas 10 concentrações em triplicata (n=3). O limite de quantificação (LOQ), foi determinado como o primeiro ponto da faixa linear da curva; o limite de detecção (LOD) como LOQ /3,3. Coeficientes de determinação (R²) e faixa linear foram obtidas a partir das curvas de calibração. Precisão intradia (n=3) e interdia (n=9) foram definidas a partir do desvio padrão relativo entre as medidas (RSD). Recuperações relativas, calculadas relativas à concentração inicial da amostra, foram avaliadas através de extrações, feitas com o método otimizado, em uma amostra de água da Lagoa de Conceição nas concentrações de 25, 100 e 250 µg L⁻¹.

7.2.4.4 Verificação da formação do DES

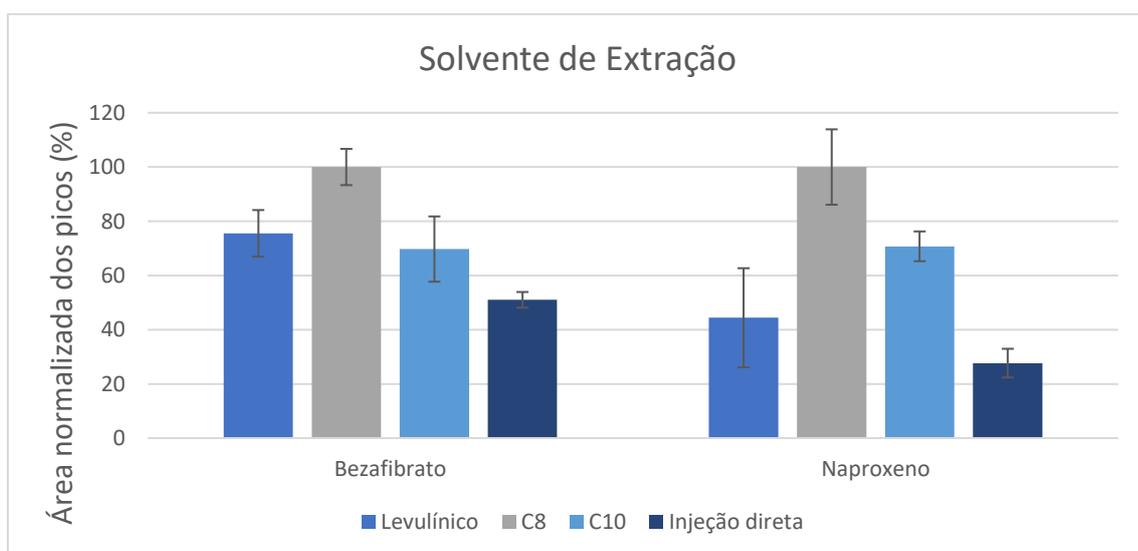
Visando elucidar se houve a formação do DES entre o composto e os analitos, foram feitas análises de infravermelho do composto que foi obtido a melhor resposta com e sem os analitos. Uma pequena quantidade do composto impregnado na membrana foi adicionada a um vial e, em sequência, alguns mililitros da solução do padrão dos analitos foram adicionados e o solvente evaporado.

7.3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

7.3.1 Triagem dos compostos

A figura 23 traz os resultados obtido pelas extrações e pela injeção direta dos analitos. Pelo gráfico é possível ver que a melhor resposta obtida foi utilizando o ácido octanóico como um dos compostos. Já foram reportados na literatura a formação de THEDES entre ácidos graxos e alguns fármacos. Também pela comparação com a injeção direta é possível notar um ganho em área de aproximadamente 50% para o bezafibrato e 70% para o naproxeno, quando utilizado o procedimento de microextração, mesmo o procedimento não tendo passado ainda por nenhuma etapa de otimização.

Figura 23: Gráfico de barras para a determinação do composto utilizado para a formação do DES com os analitos. Condições fixadas: 1,5 mL de amostra fortificada em $200 \mu\text{g L}^{-1}$. Pré-aquecimento da amostra à $40 \text{ }^\circ\text{C}$ e ajuste do pH 3 com tampão acetato. Extraído por 60 min à 80°C e dessorvido em $300 \mu\text{L}$ de ACN:MeOH (1:1) por 30 min.



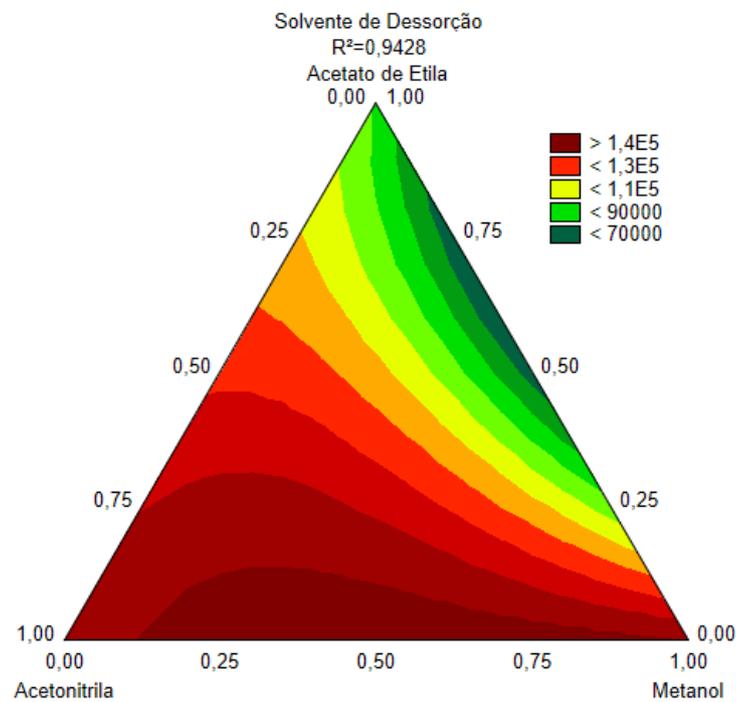
Fonte: Autoria própria.

7.3.2 Parâmetros de dessorção

Para obtenção de uma melhor resposta, na sequência, foram otimizados o solvente e o tempo de dessorção. A superfície de resposta gerado através do planejamento para o solvente de dessorção é apresentado na figura 24. Foi obtido um R^2 de 0,9428 e um ponto de máximo em 50% de ACN e 50% de MeOH. O mesmo obtido pelo planejamento do capítulo anterior, corroborando com o a possibilidade de uma alta solubilidade de ácidos graxos na mistura ACN: MeOH.

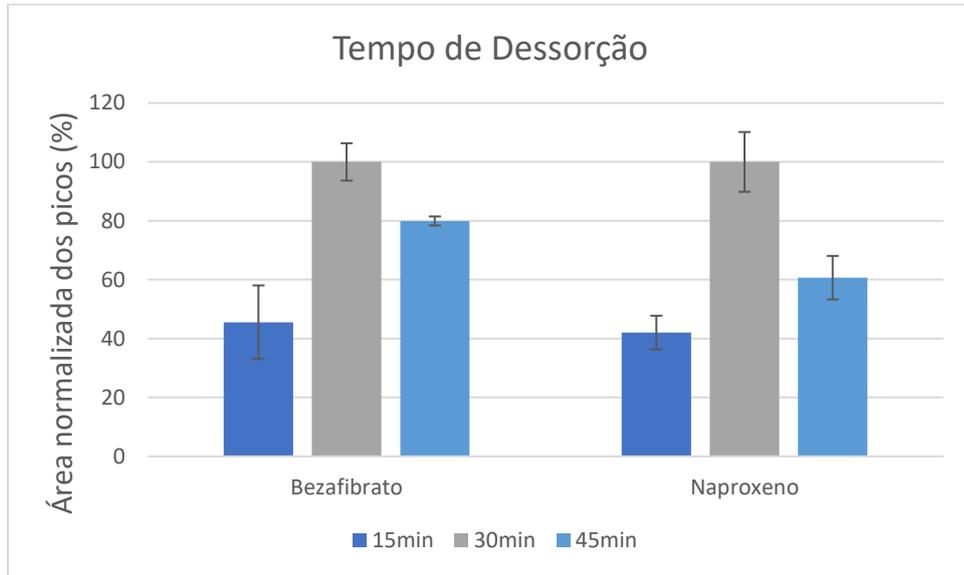
O tempo de dessorção avaliado em 3 níveis, apresentou um ponto de máxima resposta em 30 min como visto na figura 25.

Figura 24: Superfície ternária obtida para a dessorção do bezafibrato e naproxeno. Condições fixadas: 1,5 mL de amostra fortificada em $200 \mu\text{g L}^{-1}$. Pré-aquecimento da amostra à 40°C e ajuste do pH 3 com tampão acetato. Extraído por 60 min à 80°C e dessorvido em $300 \mu\text{L}$ por 30 min.



Fonte: Autoria própria.

Figura 25: Tempo de dessorção para a determinação dos fármacos. Condições fixadas: 1,5 mL de amostra fortificada em 200 $\mu\text{g L}^{-1}$. Pré-aquecimento da amostra à 40 °C e ajuste do pH 3 com tampão acetato. Extraído por 60 min à 80°C e dessorvido em 300 μL de ACN:MeOH (1:1).

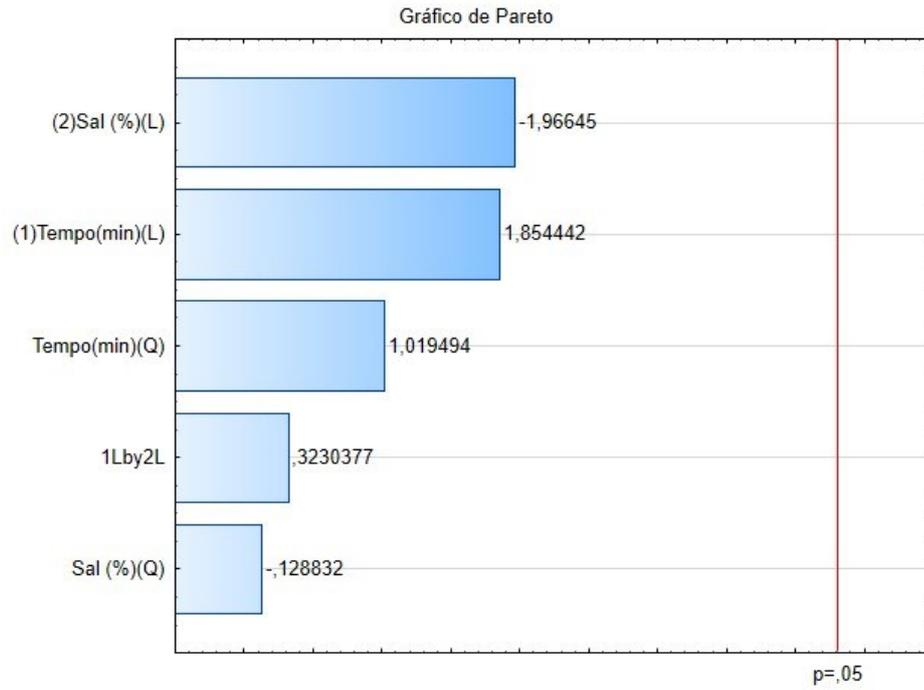


Fonte: Autoria própria.

7.3.3 Parâmetros de extração

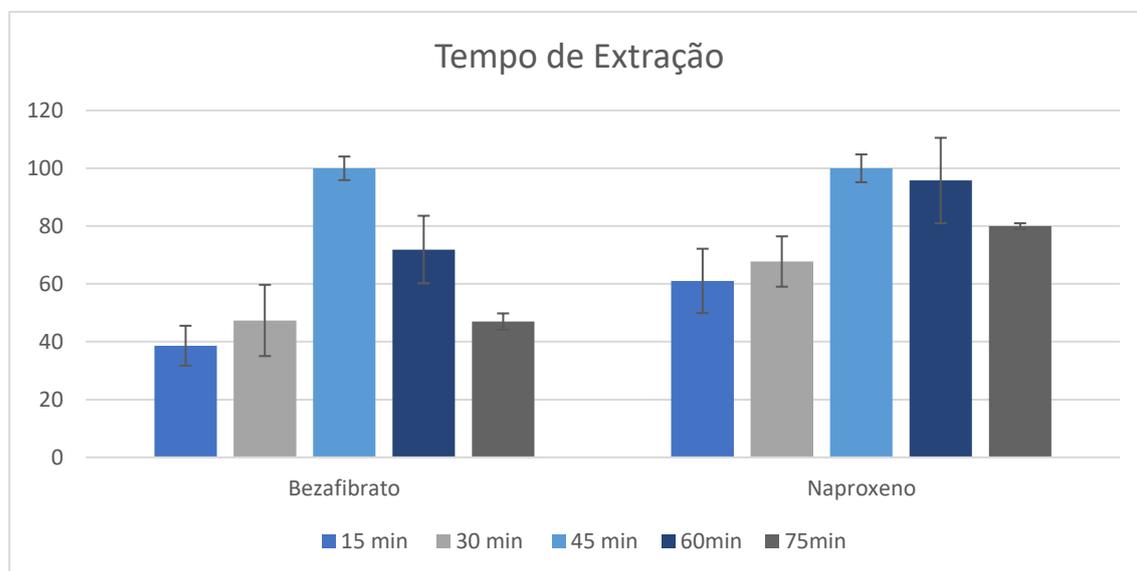
O planejamento Doehlert realizado, não apresentou diferença significativa entre os intervalos avaliados ($p=0,05$) como pode ser visto no gráfico de Pareto gerado a partir dos resultados (Figura 26), indicando que a presença de sal não afeta a extração, e que possivelmente os analitos não são afetados pelo efeito *salting out*. Com intuito de estreitar a faixa do tempo de extração, foi então avaliado de maneira univariada onde todos os tempos foram analisados em triplicata. Foi então possível verificar a presença de um ponto de máximo em 45 min (Figura 27).

Figura 26: Gráfico de Pareto para os parâmetros de extração: sal e tempo de extração. Condições fixadas: 1,5 mL de amostra fortificada em $200 \mu\text{g L}^{-1}$. Pré-aquecimento da amostra à 40°C e ajuste do pH 3 com tampão acetato. Extraído à 80°C e dessorvido em $300 \mu\text{L}$ de ACN:MeOH (1:1) por 30 min.



Fonte: Autoria própria.

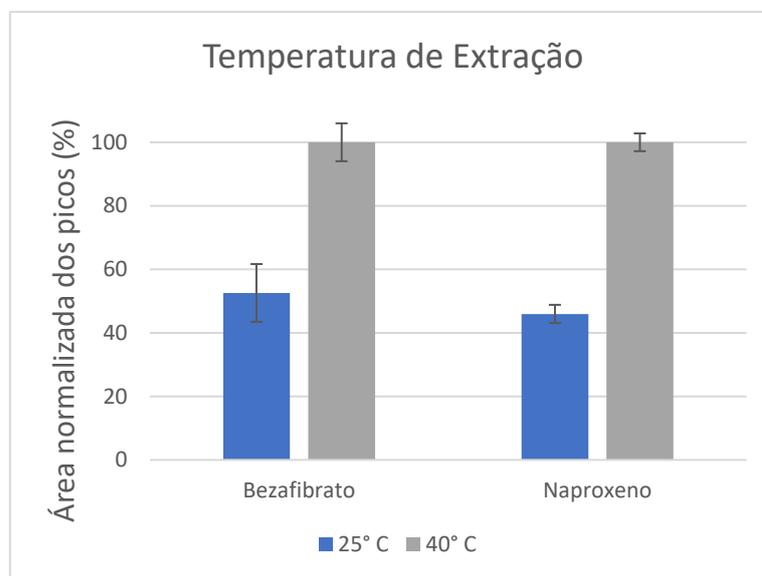
Figura 27: Tempo de extração no sistema de 96-poços profundos automático. Condições fixadas: 1,5 mL de amostra fortificada em $200 \mu\text{gL}^{-1}$. Pré-aquecimento da amostra à 40°C e ajuste do pH 3 com tampão acetato. Extraído min à 80°C e dessorvido em $300 \mu\text{L}$ de ACN:MeOH (1:1) por 30 min.



Fonte: Autoria própria.

O aquecimento até então necessário para manter o composto na forma líquida, foi avaliado pelo fato de o melhor composto ter sido o ácido octanóico que tem uma temperatura de fusão próxima dos 16°C , estando líquido sem a necessidade do aquecimento a 40°C . Na teoria, o aquecimento é necessário para a formação da maioria dos DES, porém, visando os princípios de um preparo de amostra verde, o aquecimento traria um uso de energia que, nesse caso, possivelmente desnecessário pois o componentes já estaria líquido. Os resultados obtidos são apresentados na Figura 28. Foi observado um aumento de resposta de aproximadamente 50% para ambos os analitos, indicando que a temperatura possivelmente ajuda na formação do DES aumentando a eficiência de extração.

Figura 28: Gráfico de barras para temperatura de extração e formação *in-situ* do DES. Condições fixadas: 1,5 mL de amostra fortificada em 200 $\mu\text{g L}^{-1}$. Pré-aquecimento da amostra à 40 °C e ajuste do pH 3 com tampão acetato. Extraído por 60 min e dessorvido em 300 μL de ACN:MeOH (1:1) por 30 min.



Fonte: Autoria própria.

7.3.4 Parâmetros analíticos de mérito

Com a metodologia otimizada foram geradas curvas de calibração para os dois analitos. Foram realizadas extrações em 10 pontos ($n=3$), obtendo-se uma faixa linear para ambos com 6 pontos entre 25 e 250 $\mu\text{g L}^{-1}$. A faixa linear LOQ, LOD, equação da reta e coeficiente de determinação são apresentados na Tabela 20.

Tabela 20: Faixa linear, limite de quantificação e detecção, equação da reta e coeficiente de determinação das curvas obtidas para o bezafibrato e o naproxeno.

	Faixa Linear ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LOQ ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LOD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Equação da Reta	R ²
Bezafibrato	25-250	25	7,6	$y=694,49x+14596$	0,9985
Naproxeno	25-250	25	7,6	$y= 828,85x+12537$	0,9983

Fonte: Autoria própria

Os limites de quantificação, determinados como o primeiro ponto da faixa linear, ficaram em 25 $\mu\text{g L}^{-1}$ e os limites de detecção em 7,6 $\mu\text{g L}^{-1}$. Os valores de R² ficaram acima de 0,998.

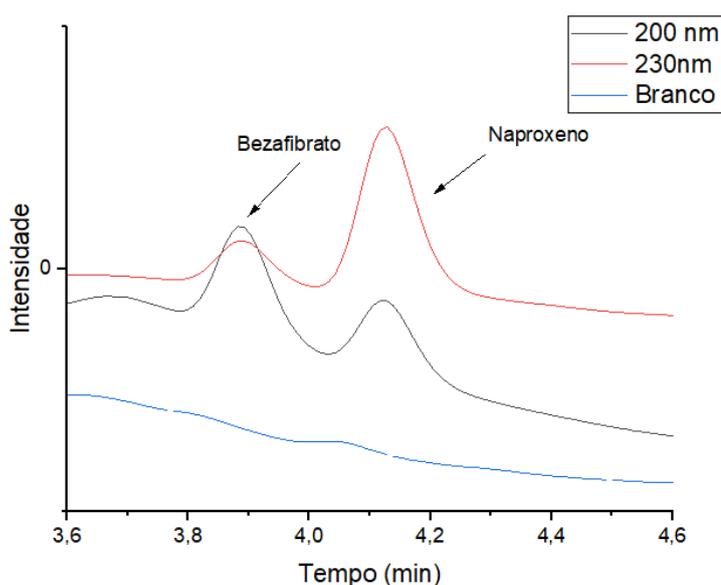
Os valores de precisão intradia, interdia e recuperação relativa são apresentados na Tabela 21. As precisões intradia variaram entre 0,7 e 7,9% para os 3 níveis. Já, as interdia, variaram entre 4,7 e 15,9%. As recuperações relativas avaliadas na água da Lagoa da Conceição ficaram entre 71 e 102%, mostrando boa reprodutibilidade do método. O cromatograma do branco da amostra de água da lagoa e das extrações relativas a $100 \mu\text{g L}^{-1}$ são apresentadas na figura 29.

Tabela 21: Valores de precisão intradia, interdia e recuperação relativa da metodologia desenvolvida para bezafibrato e naproxeno.

Concentração	Intradia (% , n=3)			Interdia (% , n=9)			Recuperação Relativa (%)		
	25 $\mu\text{g L}^{-1}$	100 $\mu\text{g L}^{-1}$	250 $\mu\text{g L}^{-1}$	25 $\mu\text{g L}^{-1}$	100 $\mu\text{g L}^{-1}$	250 $\mu\text{g L}^{-1}$	25 $\mu\text{g L}^{-1}$	100 $\mu\text{g L}^{-1}$	250 $\mu\text{g L}^{-1}$
Bezafibrato	6,6	5,2	5,9	10,3	8,2	15,9	100	102	71
Naproxeno	7,9	0,7	7,1	14,0	4,7	9,7	91	92	94

Fonte: Autoria própria

Figura 29: Cromatograma relativo à recuperação de $100 \mu\text{g L}^{-1}$ dos analitos e ao branco da água da lagoa da Conceição (200nm). Condições fixadas: 1,5 mL de amostra fortificada em $100 \mu\text{g L}^{-1}$. Pré-aquecimento da amostra à 40°C e ajuste do pH 3 com tampão acetato. Extraído por 60 min a 40°C e desorvido em $300 \mu\text{L}$ de ACN:MeOH (1:1) por 30 min.

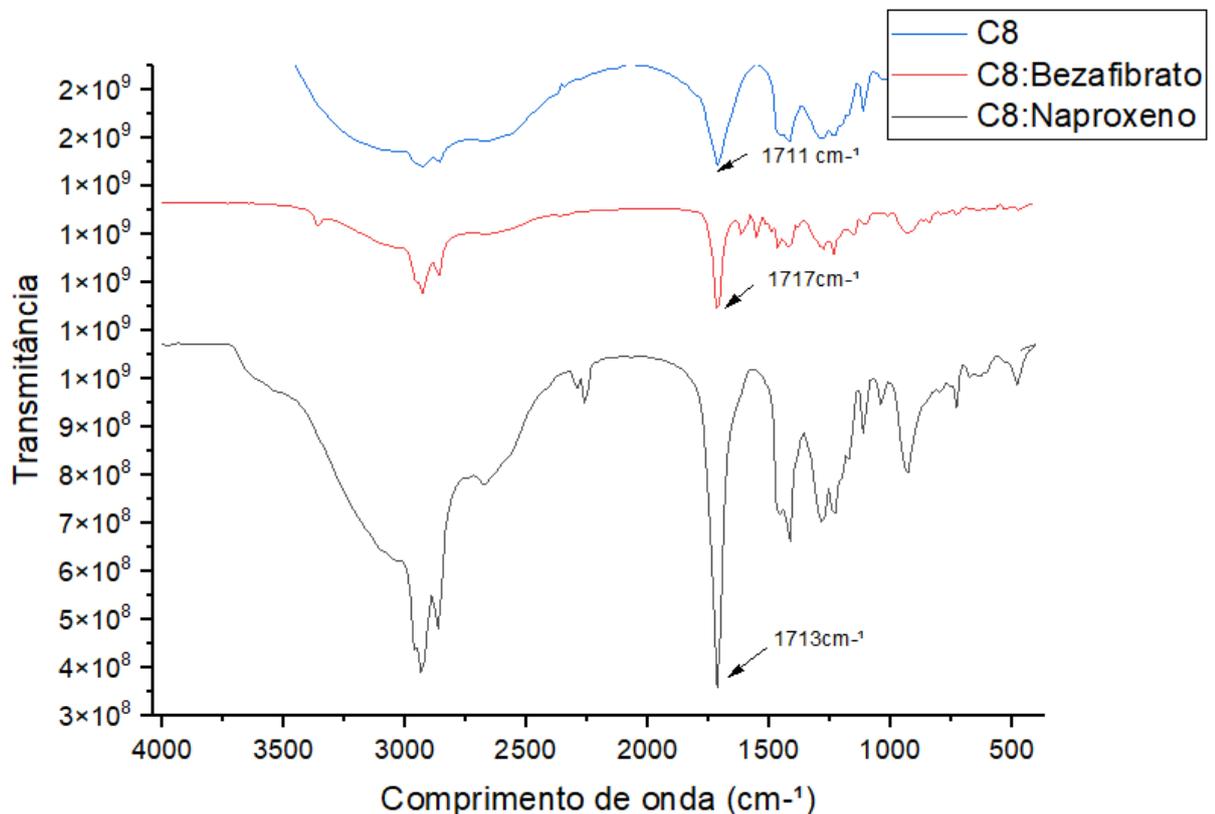


Fontes: Autoria Própria

7.3.5 Verificação da formação do DES

Tentando elucidar a possível formação do DES que seria a força motriz para a extração, foram realizados espectros de infravermelho para o ácido octanóico com naproxeno e bezafibrato. Um fator limitante nessa etapa foi o fato de o laboratório não possuir os padrões sólidos, só em soluções já diluídas o que impossibilitou colocar uma quantidade suficiente dos analitos para verificar a formação dos DES. Pela figura 30 é possível verificar pequenas mudanças quando existe a combinação do ácido octanóico com os analitos, porém seria necessária uma quantidade maior de analitos para fazer o DES na proporção certa e conseguir uma análise mais informativa. Shishov et al. 2018 conseguiram comprovar a formação do DES e que a extração não acontecia apenas dissolvendo o analito no componente, utilizando DSC e FTIR para a mistura de mentol e diclofenaco. A formação de THEDES entre ácidos graxos e API's já foi demonstrada por Benessam *et al.* 2013, que reportaram a formação de eutéticos em misturas compostas de ibuprofeno com ác. láurico e ác. Palmítico (BENESSAM et al. 2013).

Figura 30: Espectro de infravermelho para verificar a formação do DES entre o ácido octanóico, naproxeno e bezafibrato.



Fonte: Autoria própria.

7.3.6 Comparação com trabalhos já publicados na literatura

Foi possível comparar a metodologia desenvolvida com outras técnicas de microextração que também utilizaram o mesmo tipo de separação e detecção. Comparando os valores de limite de detecção e tempo de extração por amostra, a metodologia desenvolvida apresentou resultados superiores a maioria das metodologias desenvolvidas. Destaque para o fato de que as amostras nos demais trabalhos terem que ser feitas uma a uma, diminuindo a frequência de análise. A metodologia desenvolvida, quando utilizada os 96 poços do sistema, dá um tempo de preparo de 0,78 min/amostra o que seria ideal para aplicações em laboratórios de análise.

Tabela 22: Comparação entre metodologias para a determinação de fármacos já publicadas na literatura.

Instrumento	Matriz	Analitos	Técnica	Tempo por Amostra	LOD (µg L⁻¹)	Ref.
HPLC-DAD	Água e Urina	Cetoprofeno, Naproxeno, Diclofenaco e Ibuprofeno	SPE-MIP	-	300-400	(MARTINEZ-SENA et al., 2016)
HPLC-UV	Urina	Diclofenaco, Cetoprofeno, Ác. Mefenâmico	DLLME-SFO	20 min	3,4-5,2	(SYALEYANA et al., [s.d.])
HPLC-DAD	Água de lago e rio	Ác. Salicílico, Cetoprofeno, Naproxeno, Diclofenaco, Ibuprofeno	µLPME	25 min	70-300	(RAMOS-PAYAN; MASPOCH; LLOBERA, 2016)
HPLC-UV	Urina	Cetoprofeno e Diclofenaco	DES-LLME	10 min	15-44	(SHISHOV et al., 2018b)
HPLC-DAD	Água de laguna	Naproxeno e Bezafibrato	DES-HF-MMLLE	0,78 min	7,6	Esse Trabalho

7.4 CONCLUSÕES PARCIAIS

A possibilidade da formação *in situ* do DES traz uma nova possibilidade de aplicação para as técnicas de microextração. A possibilidade de formação favoreceria a extração dos compostos passíveis de formação de uma mistura eutética. Ainda seriam necessários diversos estudos quanto a essa possibilidade, porém a metodologia desenvolvida traz uma nova evidência dessa possível formação. A metodologia desenvolvida, além de inovadora, traz um modelo simples de extração que pela sua alta frequência traz a possibilidade de aplicação em

laboratórios de análise. O uso de 400 μ L de fase extratora, e 300 μ L de solvente de dessorção faz com que todo o processo de preparo de amostra seja concluído utilizando menos de 1 mL. A metodologia que utiliza um sistema automático, fica dependente do analista apenas para pipetar as quantidades de reagentes e amostras e para a troca dos poços minimizando os erros envolvidos no processo. Com isso, mais uma metodologia foi desenvolvida aplicando os conceitos de química verde e preparo de amostra verde.

CAPÍTULO VIII - CONCLUSÃO

A busca por novas metodologias para a determinação de contaminantes emergentes está em constante desenvolvimento. Novos produtos surgem, novos contaminantes surgem e novas informações quanto os possíveis efeitos desses contaminantes na saúde humana surgem. Detectar e quantificar esse contaminantes em diversas matrizes e necessário para avaliar o risco de exposição, acompanhar a exposição da população a esses compostos, determinar a contaminação dos corpos d'água e conseqüentemente da fauna da flora.

O uso de metodologias verdes acompanha uma tendência global, que apesar de muito estudada, ainda é pouco aplicada no dia a dia de indústrias e laboratórios de análise. O desenvolvimento então, de metodologias que se mostrem atrativas se torna essencial.

Esse estudo relata o uso de *deep eutectic solvents* na extração líquido-líquido em membrana microporosa com fibra oca combinando dois aspectos inerentes a química verde: o uso de solventes verdes e o uso de técnicas de microextração. O sistema ainda acoplado ao sistema 96 poços profundos trouxe uma frequência de análise para a metodologia diminuindo o tempo preparo por amostra e de contato com o analista. Foram feitos três estudos que avaliaram diferentes DES e diferentes analitos.

De maneira geral as metodologias desenvolvidas se mostraram eficientes, com resultados equiparáveis ou melhores aqueles publicados na literatura e em todo seu desenvolvimento foram mantidos os conceitos da química verde. As técnicas foram desenvolvidas com pequenas quantidades de amostra, pequenas quantidades de solventes, diminuído/quase eliminando do uso de solventes tóxicos, produzindo uma quantidade ínfima de resíduos, preparando simultaneamente até 96 amostras e utilizando um solvente verde como fase extratora. Ainda assim, foi possível obter resultados satisfatórios para limites de quantificação e detecção, precisão e recuperação.

No primeiro estudo foram determinados em diferentes amostras de água metilparabeno, etilparabeno, propilparabeno, butilparabeno, bisfenol A, bisfenol F, 17- β -estradiol, etinilestradiol, triclocarban, 4-metilbenzillideno canfora, e 2-etilhexil 4-(dimetilamino) benzoato. O uso do DES formado de timol e cânfora mostrou que um solvente preparado por compostos naturais pode extrair tão bem quanto, um solvente usual, diferentes classes de compostos com diferentes propriedades.

No segundo estudo, visando expandir a aplicação em matrizes mais complexas, foram determinados ftalatos em águas saborizadas gaseificadas. Nesse segundo estudo, avaliando um maior número de DES e diferentes combinações, foi possível avaliar o melhor DES que se adequasse tanto aos analitos, quanto a matriz mais complexa e a técnica. A

possibilidade desse “quebra-cabeça” entre diferentes compostos faz com que as limitações desses solventes sejam muito pequenas. Talvez a maior limitação seria sua adequação à alguns instrumentos de análise.

Por último, o terceiro estudo realizado aplicou o sistema desenvolvido juntamente com o conceito dos DES e se aproveitando da formação da interação entre HBA E HBD, utilizou a formação do solvente para a extração de naproxeno e bezafibrato de água. A possibilidade de uma nova força durante a extração faz com que os compostos formadores de DES possam ser, ao que tudo indica, facilmente extraídos de amostras justamente pelo fato de haver essa interação entre os compostos.

Possivelmente estudos conjuntos interdisciplinares são necessários para conhecimento mais profundos quanto a formação dos DES, suas interações, suas propriedades físico-químicas, a descoberta e o surgimento de novas combinações. Conhecimentos básicos sobre esses solventes que ainda são escassos facilitarão a aplicação desses solventes, não só em técnicas de preparo de amostra, como de maneira geral na química.

REFERÊNCIAS

- ABBOTT, A. P. et al. Novel solvent properties of choline chloride/urea mixtures †. 2002.
- ALTUNAY, N.; ELIK, A.; GÜRKAN, R. Preparation and application of alcohol based deep eutectic solvents for extraction of curcumin in food samples prior to its spectrophotometric determination. **Food Chemistry**, v. 310, n. December 2019, p. 125933, 2020.
- ARIFFIN, M. M. et al. Surfactant functionalization of magnetic nanoparticles: A greener method for parabens determination in water samples by using magnetic solid phase extraction. **Microchemical Journal**, v. 147, n. January, p. 930–940, 2019.
- ARMENTA, S. et al. green extraction techniques in green analytical chemistry. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 116, p. 248–253, 2019.
- AROSO, I. M. et al. Design of controlled release systems for THEDES—Therapeutic deep eutectic solvents, using supercritical fluid technology. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 492, n. 1–2, p. 73–79, 15 ago. 2015.
- ARTHUR, C. L.; PAWLISZYN, J. Solid Phase Microextraction with Thermal Desorption Using Fused Silica Optical Fibers. **Analytical Chemistry**, v. 62, n. 19, p. 2145–2148, 1990.
- AYDIN, F.; YILMAZ, E.; SOYLAK, M. A simple and novel deep eutectic solvent-based ultrasound-assisted emulsification liquid phase microextraction method for malachite green in farmed and ornamental aquarium fish water samples. **Microchemical Journal**, v. 132, p. 280–285, 2017.
- BENESSAM, S. et al. Phase diagram of ibuprofen with fatty acids. [s.d.].
- BOND, A. D. On the crystal structures and melting point alternation of the n-alkyl carboxylic acids. [s.d.].
- CARASEK, E. et al. Alternative green extraction phases applied to microextraction techniques for organic compound determination. **Separations**, v. 6, n. 3, 2019.
- CARASEK, E.; MERIB, J. Membrane-based microextraction techniques in analytical chemistry: A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 880, p. 8–25, 23 jun. 2015.
- CHANDRAN, D. et al. Deep eutectic solvents for extraction-desulphurization: A review. **Journal of Molecular Liquids**, v. 275, p. 312–322, 2019.
- CHEN, J. et al. Determination and Correlation of Solubility of Borneol, Camphor, and Isoborneol in Different Solvents. **Journal of Chemical and Engineering Data**, v. 64, n. 4, p. 1826–1833, 2019.
- CHEN, Y.; LIN, M.; ZHUANG, D. Wastewater treatment and emerging contaminants: Bibliometric analysis. **Chemosphere**, v. 297, 1 jun. 2022.
- CICHOCKI, Ł. et al. New Simple and Robust Method for Determination of Polarity of Deep Eutectic Solvents (DESS) by Means of Contact Angle Measurement. **Molecules 2022, Vol. 27, Page 4198**, v. 27, n. 13, p. 4198, 29 jun. 2022.
- CUNHA, S. C.; FERNANDES, J. O. **Extraction techniques with deep eutectic solvents. TrAC - Trends in Analytical Chemistry** Elsevier B.V., , 1 ago. 2018. . Acesso em: 3 ago. 2020

DAI, Y. et al. Natural deep eutectic solvents as new potential media for green technology. **Analytica Chimica Acta**, v. 766, p. 61–68, 2013.

DIAS, A. N. et al. A novel approach to bar adsorptive microextraction: Cork as extractor phase for determination of benzophenone, triclocarban and parabens in aqueous samples. **Analytica Chimica Acta**, v. 888, p. 59–66, 2015.

DOĞAN, B.; ELIK, A.; ALTUNAY, N. Determination of paracetamol in synthetic urea and pharmaceutical samples by shaker-assisted deep eutectic solvent microextraction and spectrophotometry. **Microchemical Journal**, v. 154, n. November 2019, p. 104645, 2020.

ESPINO, M. et al. Natural designer solvents for greening analytical chemistry. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 76, p. 126–136, 1 fev. 2016.

FAN, Y.; LIU, S.; XIE, Q. Rapid determination of phthalate esters in alcoholic beverages by conventional ionic liquid dispersive liquid–liquid microextraction coupled with high performance liquid chromatography. **Talanta**, v. 119, p. 291–298, 15 fev. 2014.

FARAJZADEH, M. A.; SATTARI DABBAGH, M.; YADEGHARI, A. Deep eutectic solvent-based gas-assisted dispersive liquid-phase microextraction combined with gas chromatography and flame ionization detection for the determination of some pesticide residues in fruit and vegetable samples. **Journal of Separation Science**, v. 40, n. 10, p. 2253–2260, 2017.

FERRONE, V. et al. A green deep eutectic solvent dispersive liquid-liquid micro-extraction (DES-DLLME) for the UHPLC-PDA determination of oxyprenylated phenylpropanoids in olive, soy, peanuts, corn, and sunflower oil. **Food Chemistry**, v. 245, n. October 2017, p. 578–585, 2018.

GE, D. et al. A Deep Eutectic Solvent as an Extraction Solvent to Separate and Preconcentrate Parabens in Water Samples Using in situ Liquid-Liquid Microextraction. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 30, n. 6, p. 1203–1210, 2019.

GONZÁLEZ-SÁLAMO, J.; SOCAS-RODRÍGUEZ, B.; HERNÁNDEZ-BORGES, J. Analytical methods for the determination of phthalates in food. **Current Opinion in Food Science**, v. 22, p. 122–136, 1 ago. 2018.

GU, T. et al. Deep eutectic solvents as novel extraction media for phenolic compounds from model oil. **Chemical Communications**, v. 50, n. 79, p. 11749–11752, 2014.

GUO, Z. et al. Determination of Six Phthalic Acid Esters in Orange Juice Packaged by PVC Bottle Using SPE and HPLC-UV: Application to the Migration Study. **Journal of Chromatographic Science**, v. 48, n. 9, p. 760–765, 1 out. 2010.

HANSEN, B. B. et al. Deep Eutectic Solvents: A Review of Fundamentals and Applications. 2020.

HANSEN, F. A.; PEDERSEN-BJERGAARD, S. Electromembrane extraction of streptomycin from biological fluids. **Journal of Chromatography A**, v. 1639, 22 fev. 2021.

HAY, A. O. et al. Liquid-phase microextraction in bioanalysis – How green can it be? **Green Analytical Chemistry**, v. 3, p. 100028, Dez. 2022.

HAYYAN, A. et al. Fruit sugar-based deep eutectic solvents and their physical properties. **Thermochimica Acta**, v. 541, p. 70–75, 2012.

HUTCHINSON, J. P.; SETKOVA, L.; PAWLISZYN, J. Automation of solid-phase microextraction on a 96-well plate format. **Journal of Chromatography A**, v. 1149, n. 2, p. 127–137, 18 Maio 2007.

JOUYBAN, A.; FARAJZADEH, M. A.; AFSHAR MOGADDAM, M. R. Dispersive liquid–liquid microextraction based on solidification of deep eutectic solvent droplets for analysis of pesticides in farmer urine and plasma by gas chromatography–mass spectrometry. **Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences**, v. 1124, n. December 2018, p. 114–121, 2019.

KANBEROGLU, G. S.; YILMAZ, E.; SOYLAK, M. Application of deep eutectic solvent in ultrasound-assisted emulsification microextraction of quercetin from some fruits and vegetables. **Journal of Molecular Liquids**, v. 279, p. 571–577, 2019.

KAPPENSTEIN, O. et al. **Toxicologically relevant phthalates in food**. EXS, 2012.

KHAN, S. et al. Emerging contaminants of high concern for the environment: Current trends and future research. **Environmental Research**, v. 207, 1 Maio 2022.

KHAN, W. A. et al. **Hollow fiber-based liquid phase microextraction followed by analytical instrumental techniques for quantitative analysis of heavy metal ions and pharmaceuticals**. **Journal of Pharmaceutical Analysis Xi'an Jiaotong University**, , 1 abr. 2020.

KHATAEI, M. M. et al. Novel generation of deep eutectic solvent as an acceptor phase in three-phase hollow fiber liquid phase microextraction for extraction and preconcentration of steroidal hormones from biological fluids. **Talanta**, v. 178, n. September 2017, p. 473–480, 2018.

KIRSCHNER, N. et al. Novel approach to high-throughput determination of endocrine disruptors using recycled diatomaceous earth as a green sorbent phase for thin-film solid-phase microextraction combined with 96-well plate system. **Analytica Chimica Acta**, v. 996, p. 29–37, 15 Dez. 2017.

KOKOSA, J. M. Selecting an extraction solvent for a greener liquid phase microextraction (LPME) mode-based analytical method. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 118, p. 238–247, 1 set. 2019.

LAMEI, N.; EZODDIN, M.; ABDI, K. Air assisted emulsification liquid-liquid microextraction based on deep eutectic solvent for preconcentration of methadone in water and biological samples. **Talanta**, v. 165, p. 176–181, 2017.

LATIMER, G. W. Guidelines for Standard Method Performance Requirements (Appendix F). **Official Methods of Analysis of AOAC International**, p. 1–18, 2016.

LEE, J. et al. **Environmental and bioanalytical applications of hollow fiber membrane liquid-phase microextraction: A review**. **Analytica Chimica Acta Elsevier**, 29 ago. 2008. . Acesso em: 29 jul. 2020

LEI, M. et al. Overview of Emerging Contaminants and Associated Human Health Effects. **BioMed Research International**, v. 2015, 2015.

LI, H. et al. Liquid-Liquid Microextraction Based on Acid-Base-Induced Deep Eutectic Solvents for Determination of β -Carotene and Lycopene in Fruit Juices. **Food Analytical Methods**, v. 12, n. 12, p. 2777–2784, 2019a.

LI, K. et al. In situ formation of thymol-based hydrophobic deep eutectic solvents: Application to antibiotics analysis in surface water based on liquid-liquid microextraction followed by liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 1614, 15 mar. 2020.

LI, P. et al. Centrifugation free and air-assisted liquid-liquid microextraction based on deep eutectic solvent for determination of rare ginsenosides in Kang'ai injection. **Microchemical Journal**, v. 142, p. 313–320, 2018.

LI, T. et al. A hydrophobic deep eutectic solvent mediated sol-gel coating of solid phase microextraction fiber for determination of toluene, ethylbenzene and o-xylene in water coupled with GC-FID. **Talanta**, v. 195, p. 298–305, 2019b.

LIU, H.; DASGUPTA, P. K. Analytical chemistry in a drop. solvent extraction in a microdrop. **Analytical Chemistry**, v. 68, n. 11, p. 1817–1821, 1996.

LIU, X. et al. Ultrasound-assisted dispersive liquid-liquid microextraction based on a hydrophobic deep eutectic solvent for the preconcentration of pyrethroid insecticides prior to determination by high-performance liquid chromatography. **Microchemical Journal**, v. 146, p. 614–621, 2019.

LÓPEZ-LORENTE, Á. I. et al. **The ten principles of green sample preparation. TrAC - Trends in Analytical Chemistry** Elsevier B.V., , 1 mar. 2022.

LUO, Q. et al. Migration and potential risk of trace phthalates in bottled water: A global situation. **Water Research**, v. 147, p. 362–372, 15 Dez. 2018.

MACKEOWN, H. et al. The study of polar emerging contaminants in seawater by passive sampling: A review. **Chemosphere**, v. 299, 1 July 2022.

MAFRA, G. et al. Single drop microextraction in a 96-well plate format: A step toward automated and high-throughput analysis. **Analytica Chimica Acta**, v. 1063, p. 159–166, 31 jul. 2019.

MAKOŚ, P. et al. Sample preparation procedure using extraction and derivatization of carboxylic acids from aqueous samples by means of deep eutectic solvents for gas chromatographic-mass spectrometric analysis. **Journal of Chromatography A**, v. 1555, p. 10–19, 2018.

MAKOŚ, P.; PRZYJAZNY, A.; BOCZKAJ, G. Hydrophobic deep eutectic solvents as “green” extraction media for polycyclic aromatic hydrocarbons in aqueous samples. **Journal of Chromatography A**, v. 1570, p. 28–37, 2018a.

MAKOŚ, P.; PRZYJAZNY, A.; BOCZKAJ, G. Hydrophobic deep eutectic solvents as “green” extraction media for polycyclic aromatic hydrocarbons in aqueous samples. **Journal of Chromatography A**, v. 1570, p. 28–37, 2018b.

MAKOŚ, P.; PRZYJAZNY, A.; BOCZKAJ, G. Hydrophobic deep eutectic solvents as “green” extraction media for polycyclic aromatic hydrocarbons in aqueous samples. **Journal of Chromatography A**, v. 1570, p. 28–37, 2018c.

MAKOŚ, P.; PRZYJAZNY, A.; BOCZKAJ, G. Hydrophobic deep eutectic solvents as “green” extraction media for polycyclic aromatic hydrocarbons in aqueous samples. **Journal of Chromatography A**, v. 1570, p. 28–37, 5 out. 2018d.

MARTINEZ-SENA, T. et al. Determination of non-steroidal anti-inflammatory drugs in water and urine using selective molecular imprinted polymer extraction and liquid chromatography. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 131, p. 48–53, 30 Nov. 2016.

MJALLI, F. S. et al. Monoethanolamine-based deep eutectic solvents, their synthesis and characterization. 2017.

MOAZZEN, M. et al. Determination of phthalate acid esters (PAEs) in carbonated soft drinks with MSPE/GC–MS method. **Toxin Reviews**, v. 37, n. 4, p. 319–326, 2 out. 2018.

MOGHADAM, A. G.; RAJABI, M.; ASGHARI, A. **Efficient and relatively safe emulsification microextraction using a deep eutectic solvent for influential enrichment of trace main anti-depressant drugs from complicated samples**. [s.l.] Elsevier B.V., 2018. v. 1072

MOHAPATRA, D. P.; KIRPALANI, D. M. Advancement in treatment of wastewater: Fate of emerging contaminants. **Canadian Journal of Chemical Engineering**, v. 97, n. 10, p. 2621–2631, 2019.

NAEBI, M. et al. In-process prepared deep eutectic solvent based homogeneous liquid–liquid microextraction for the determination of irgaphos 168 and irganox 1010 in polypropylene packed drinks. **Journal of Separation Science**, n. February, p. 1–8, 2020.

NAIDU, R. et al. Emerging contaminants in the environment: Risk-based analysis for better management. **Chemosphere**, v. 154, p. 350–357, 2016.

NAJAFI, A.; HASHEMI, M. Vortex-assisted natural deep eutectic solvent microextraction using response surface methodology optimization for determination of orthophosphate in water samples by molybdenum blue method. **Journal of Separation Science**, v. 42, n. 19, p. 3102–3109, 2019.

NENG, N. R.; SILVA, A. R. M.; NOGUEIRA, J. M. F. Adsorptive micro-extraction techniques–Novel analytical tools for trace levels of polar solutes in aqueous media. **Journal of Chromatography A**, v. 1217, n. 47, p. 7303–7310, 2010.

NERIN, C. et al. **The challenge of identifying non-intentionally added substances from food packaging materials: A review**. **Analytica Chimica Acta**, 2 maio 2013. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23601971/>>. Acesso em: 16 Jul. 2020

NUGBIENYO, L. et al. Flow method based on liquid-liquid extraction using deep eutectic solvent for the spectrofluorimetric determination of procainamide in human saliva. **Talanta**, v. 168, n. January, p. 307–312, 2017.

ORTEGA-ZAMORA, C. et al. Menthol-Based Deep Eutectic Solvent Dispersive Liquid-Liquid Microextraction: A Simple and Quick Approach for the Analysis of Phthalic Acid Esters from Water and Beverage Samples. **ACS Sustainable Chemistry and Engineering**, v. 8, n. 23, p. 8783–8794, 2020.

PACHECO-FERNÁNDEZ, I.; PINO, V. Green solvents in analytical chemistry. **Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry**, v. 18, p. 42–50, 2019.

PARIDA, V. K. et al. Emerging contaminants in wastewater: A critical review on occurrence, existing legislations, risk assessment, and sustainable treatment alternatives. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 9, n. 5, 1 out. 2021.

PEDERSEN-BJERGAARD, S.; RASMUSSEN, K. E. Liquid-liquid-liquid microextraction for sample preparation of biological fluids prior to capillary electrophoresis. **Analytical Chemistry**, v. 71, n. 14, p. 2650–2656, 15 Jul. 1999.

PEDERSEN-BJERGAARD, S.; RASMUSSEN, K. E. **Liquid-phase microextraction with porous hollow fibers, a miniaturized and highly flexible format for liquid-liquid extraction.** **Journal of Chromatography A**, 14 mar. 2008.

PENA-PEREIRA, F. et al. A Tutorial on AGREE prep an Analytical Greenness Metric for Sample Preparation. **Advances in Sample Preparation**, v. 3, p. 100025, ago. 2022.

RAHMAN, M. S. et al. Formulation, structure, and applications of therapeutic and amino acid-based deep eutectic solvents: An overview. **Journal of Molecular Liquids**, v. 321, 1 Jan. 2021.

RAJABI, M. et al. **Highly effective and safe intermediate based on deep eutectic medium for carrier less-three phase hollow fiber microextraction of antiarrhythmic agents in complex matrices.** [s.l.] Elsevier B.V, 2019. v. 1104

RAMOS-PAYAN, M.; MASPOCH, S.; LLOBERA, A. An effective microfluidic based liquid-phase microextraction device (μ LPME) for extraction of non-steroidal anti-inflammatory drugs from biological and environmental samples. **Analytica Chimica Acta**, v. 946, p. 56–63, 23 Nov. 2016.

ROCHA, B. A.; DE OLIVEIRA, A. R. M.; BARBOSA, F. A fast and simple air-assisted liquid-liquid microextraction procedure for the simultaneous determination of bisphenols, parabens, benzophenones, triclosan, and triclocarban in human urine by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Talanta**, v. 183, p. 94–101, 2018.

SAIDULU, D. et al. A review on occurrences, eco-toxic effects, and remediation of emerging contaminants from wastewater: Special emphasis on biological treatment-based hybrid systems. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 9, n. 4, 1 ago. 2021.

SAJID, M.; PŁOTKA-WASYLKA, J. Green analytical chemistry metrics: A review. **Talanta**, v. 238, 1 fev. 2022.

SALAZAR-BELTRÁN, D. et al. Phthalates in Beverages and Plastic Bottles: Sample Preparation and Determination. [s.d.].

SARAFRAZ-YAZDI, A.; AMIRI, A. **Liquid-phase microextraction. TrAC - Trends in Analytical Chemistry** Elsevier, , 1 Jan. 2010. . Acesso em: 27 Jul. 2020

SCHÜLLER, M. et al. Membrane-based liquid-phase microextraction of basic pharmaceuticals – A study on the optimal extraction window. **Journal of Chromatography A**, v. 1664, 8 fev. 2022.

SHAABAN, H.; GÓRECKI, T. Fast ultrahigh performance liquid chromatographic method for the simultaneous determination of 25 emerging contaminants in surface water and wastewater samples using superficially porous sub-3 µm particles as an alternative to fully porous sub-2 µm partic. **Talanta**, v. 100, p. 80–89, 2012.

SHAHBODAGHI, M. et al. Sustainable and green microextraction of organophosphorus flame retardants by a novel phosphonium-based deep eutectic solvent. **Journal of Separation Science**, v. 43, n. 2, p. 452–461, 2020.

SHISHOV, A. et al. An automated homogeneous liquid-liquid microextraction based on deep eutectic solvent for the HPLC-UV determination of caffeine in beverages. **Microchemical Journal**, v. 144, n. September 2018, p. 469–473, 2019a.

SHISHOV, A. et al. In situ decomposition of deep eutectic solvent as a novel approach in liquid-liquid microextraction. **Analytica Chimica Acta**, v. 1065, p. 49–55, 2019.

SHISHOV, A. et al. An effervescence-assisted dispersive liquid–liquid microextraction based on deep eutectic solvent decomposition: Determination of ketoprofen and diclofenac in liver. **Microchemical Journal**, v. 156, n. December 2019, p. 104837, 2020.

SHISHOV, A.; GAGARIONOVA, S.; BULATOV, A. Deep eutectic mixture membrane-based microextraction: HPLC-FLD determination of phenols in smoked food samples. **Food Chemistry**, v. 314, n. December 2019, p. 126097, 2020.

SHISHOV, A. Y. et al. A new approach for microextraction of non-steroidal anti-inflammatory drugs from human urine samples based on in-situ deep eutectic mixture formation. **Journal of Molecular Liquids**, v. 272, p. 738–745, 2018a.

SHISHOV, A. Y. et al. A new approach for microextraction of non-steroidal anti-inflammatory drugs from human urine samples based on in-situ deep eutectic mixture formation. **Journal of Molecular Liquids**, v. 272, p. 738–745, 15 Dez. 2018b.

SILVA, E. et al. Untangling the bioactive properties of therapeutic deep eutectic solvents based on natural terpenes. **Current Research in Chemical Biology**, v. 1, p. 100003, 2021.

SIVRIKAYA OZAK, S.; YILMAZ, Y. Ultrasound-assisted hydrophobic deep eutectic solvent based solid-liquid microextraction of Sudan dyes in spice samples. **Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 236, p. 118353, 2020.

SMITH, E. L.; ABBOTT, A. P.; RYDER, K. S. 2014-SmithAbbottRyder-Deep Eutectic Solvents (DESS) and Their Applications.pdf. **Chemical Reviews**, v. 114, p. 11060–11082, 2014.

SMITH, R. M. Before the injection--modern methods of sample preparation for separation techniques. **Journal of chromatography. A**, v. 1000, n. 1–2, p. 3–27, 2003.

SOLAESA, A. G. et al. Green determination of brominated flame retardants and organochloride pollutants in fish oils by vortex assisted liquid-liquid microextraction and gas chromatography-tandem mass spectrometry. **Talanta**, v. 195, p. 251–257, 2019.

SOYLAK, M.; UZCAN, F. A novel ultrasonication-assisted deep eutectic solvent microextraction procedure for tartrazine at trace levels from environmental samples. **Journal of the Iranian Chemical Society**, v. 17, n. 2, p. 461–467, 2020.

SPIETELUN, A. et al. **Recent developments and future trends in solid phase microextraction techniques towards green analytical chemistry. Journal of Chromatography A** Elsevier B.V., , 20 Dez. 2013. . Acesso em: 9 ago. 2020

SYALEYANA, D. et al. Liquid Chromatographic Determination of NSAIDs in Urine After Dispersive Liquid-Liquid Microextraction Based on Solidification of Floating Organic Droplets. [s.d.].

TAHERAN, M. et al. Emerging contaminants: Here today, there tomorrow! **Environmental Nanotechnology, Monitoring and Management**, v. 10, n. May, p. 122–126, 2018.

TORBATI, M. et al. Simultaneous derivatization and air-assisted liquid-liquid microextraction based on solidification of lighter than water deep eutectic solvent followed by gas chromatography-mass spectrometry: An efficient and rapid method for trace analysis of aromatic a. **Analytica Chimica Acta**, v. 1032, p. 48–55, 2018.

TRIAUX, Z. et al. Deep eutectic solvent-based headspace single-drop microextraction for the quantification of terpenes in spices. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 412, n. 4, p. 933–948, 2020.

TYUMINA, E. A. et al. Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs as Emerging Contaminants. v. 89, n. 2, p. 152–168, 2020.

VAN OSCH, D. J. G. P. et al. A Search for Natural Hydrophobic Deep Eutectic Solvents Based on Natural Components. **ACS Sustainable Chemistry and Engineering**, v. 7, n. 3, p. 2933–2942, 2019.

VARSHA, M.; SENTHIL KUMAR, P.; SENTHIL RATHI, B. A review on recent trends in the removal of emerging contaminants from aquatic environment using low-cost adsorbents. **Chemosphere**, v. 287, 1 Jan. 2022.

VIAN, M. et al. Green solvents for sample preparation in analytical chemistry. **Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry**, v. 5, p. 44–48, 1 jun. 2017.

VIDAL, L. et al. Ionic liquid-based single-drop microextraction followed by liquid chromatography-ultraviolet spectrophotometry detection to determine typical UV filters in surface water samples. **Talanta**, v. 81, n. 1–2, p. 549–555, 2010.

WANG, H. et al. Vortex-assisted deep eutectic solvent reversed-phase liquid–liquid microextraction of triazine herbicides in edible vegetable oils. **Journal of Chromatography A**, v. 1589, p. 10–17, 2019.

WANG, R.; LI, W.; CHEN, Z. Solid phase microextraction with poly(deep eutectic solvent) monolithic column online coupled to HPLC for determination of non-steroidal anti-inflammatory drugs. **Analytica Chimica Acta**, v. 1018, p. 111–118, 2018.

WU, X. et al. Development of a deep eutectic solvent-based matrix solid phase dispersion methodology for the determination of aflatoxins in crops. **Food Chemistry**, v. 291, p. 239–244, 2019.

YAMINI, Y.; ESRAFILI, A.; GHAMBARIAN, M. Online Injection-Based Hollow Fiber Liquid-Phase Microextraction–High-Performance Liquid Chromatography as a Fully Automatic Sample Processing for Phthalate Esters Analysis. **Food Analytical Methods**, v. 9, n. 3, p. 729–737, 1 mar. 2016.

YANG, D. et al. A green deep eutectic solvents microextraction coupled with acid-base induction for extraction of trace phenolic compounds in large volume water samples. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 178, n. April, p. 130–136, 2019.

YILMAZ, P. K.; ERTAŞ, A.; KOLAK, U. Simultaneous determination of seven phthalic acid esters in beverages using ultrasound and vortex-assisted dispersive liquid-liquid microextraction followed by high-performance liquid chromatography. **Journal of Separation Science**, v. 37, n. 16, p. 2111–2117, 2014.

YIN, T. et al. Therapeutic deep eutectic solvent based on osthole and paeonol: Preparation, characterization, and permeation behavior. [s.d.].

YU, K. et al. salting out-assisted dispersive liquid-liquid microextraction based on deep. **Food Chemistry**, p. 127371, 2020.

ZHANG, K. et al. A hydrophobic deep eutectic solvent-based vortex-assisted liquid-liquid microextraction for the determination of formaldehyde from biological and indoor air samples by high performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 1589, p. 39–46, 2019.

ZHANG, K. et al. Vortex-Assisted Liquid-Liquid Microextraction Based on a Hydrophobic Deep Eutectic Solvent for the Highly Efficient Determination of Sudan I in Food Samples. **Analytical Letters**, v. 53, n. 8, p. 1204–1217, 2020.

ZHANG, Q. et al. **Deep eutectic solvents: Syntheses, properties and applications. Chemical Society Reviews**, 2012.

ZHANG, Z.; YANG, M. J.; PAWLISZYN, J. Solid-Phase Microextraction: A Solvent-Free Alternative for Sample Preparation. **Analytical Chemistry**, v. 66, n. 17, p. 844A-853A, 1994.

ZHU, P. et al. Solubility and solution thermodynamics of thymol in six pure organic solvents. **Journal of Chemical Thermodynamics**, v. 92, p. 198–206, 2016.

ZHU, S. et al. Liquid–liquid microextraction of synthetic pigments in beverages using a hydrophobic deep eutectic solvent. **Food Chemistry**, v. 243, n. September 2017, p. 351–356, 2018.

ZORITA, S.; BARRI, T.; MATHIASSEN, L. A novel hollow-fiber microporous membrane liquid-liquid extraction for determination of free 4-isobutylacetophenone concentration at ultra trace level in environmental aqueous samples. **Journal of Chromatography A**, v. 1157, n. 1–2, p. 30–37, 20 Jul. 2007.

ANEXOS

Figura A1- Comparação dos espectros de infravermelho dos componentes individuais e do DES de ácido decanóico e nonanóico.

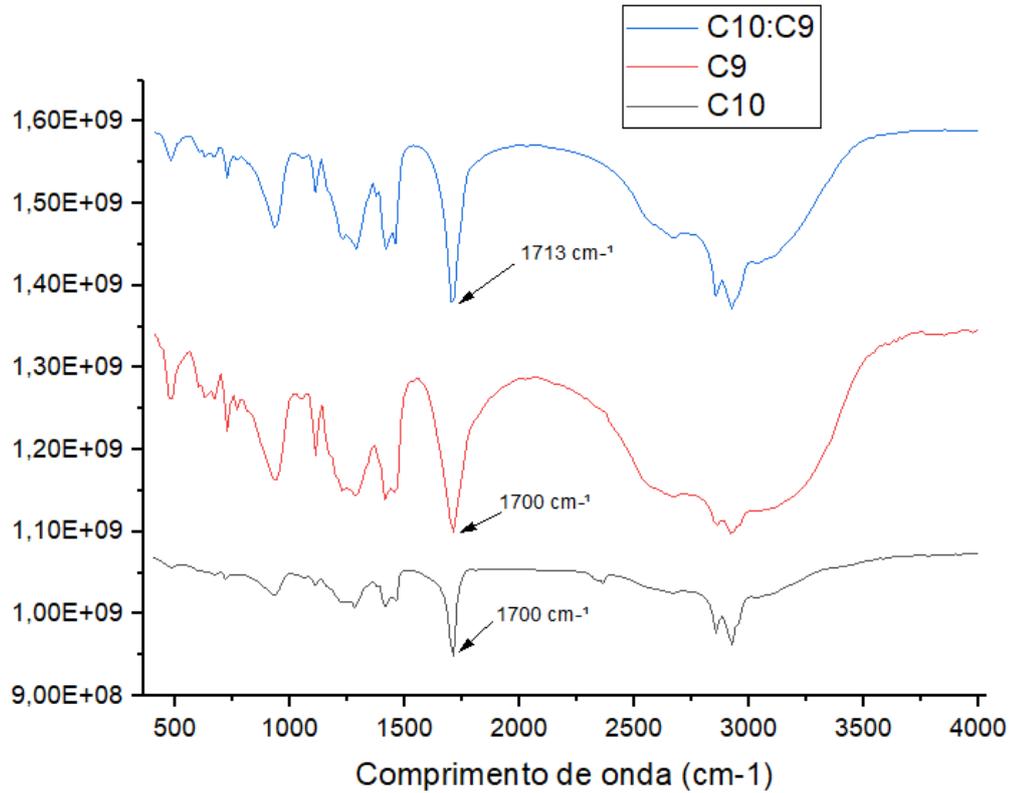


Figura A2 - Cromatograma de uma amostra real fortificada a 50 µg L⁻¹ com todos os comprimentos de onda monitorados mostrando os picos dos componentes do DES.

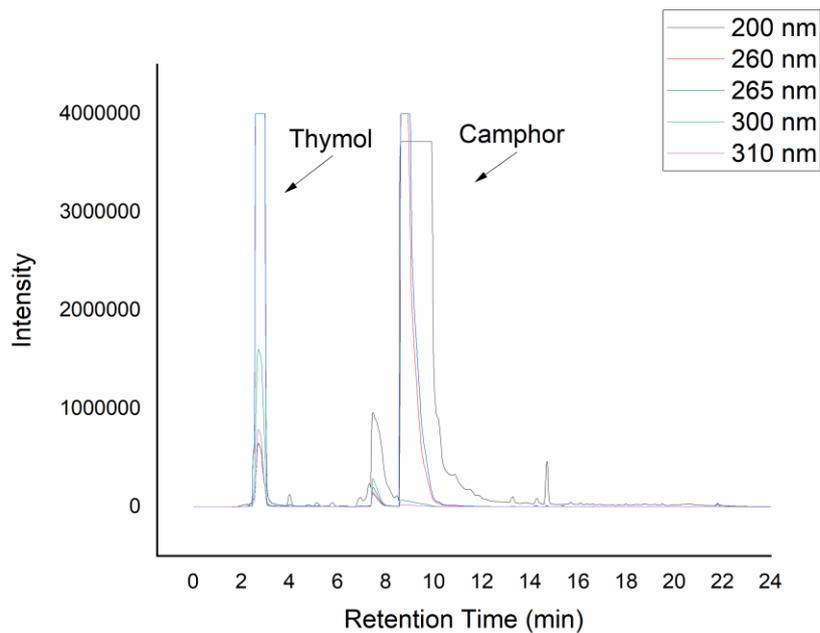


Figura A3 - Cromatograma em 200 nm. Metilparabeno (MeP), bisfenol F (BPF), bisfenol A (BPA), propilparabeno (PrP), 17- β -estradiol (17-BE) e etinilestradiol (EE2).

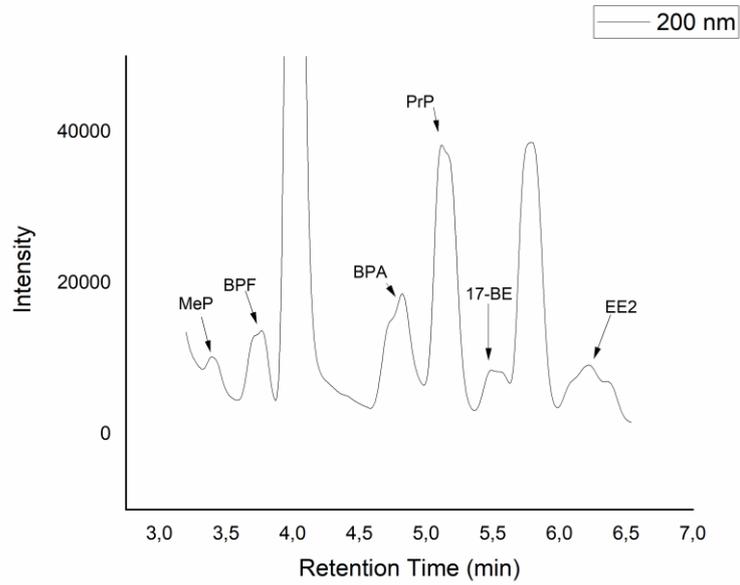


Figura A4 - Cromatograma em 260 nm foco em Etilparabeno (EtP) e butilparabeno (BuP).

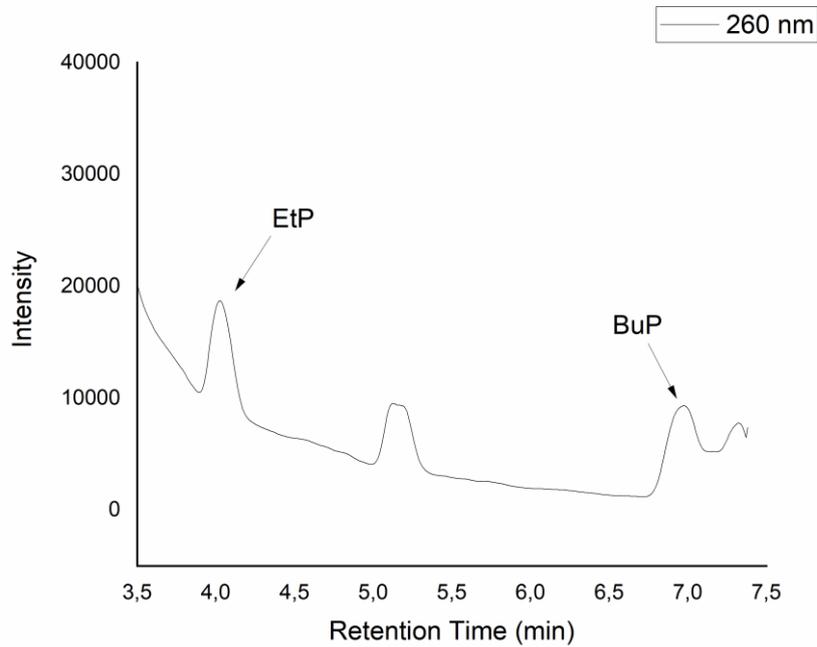


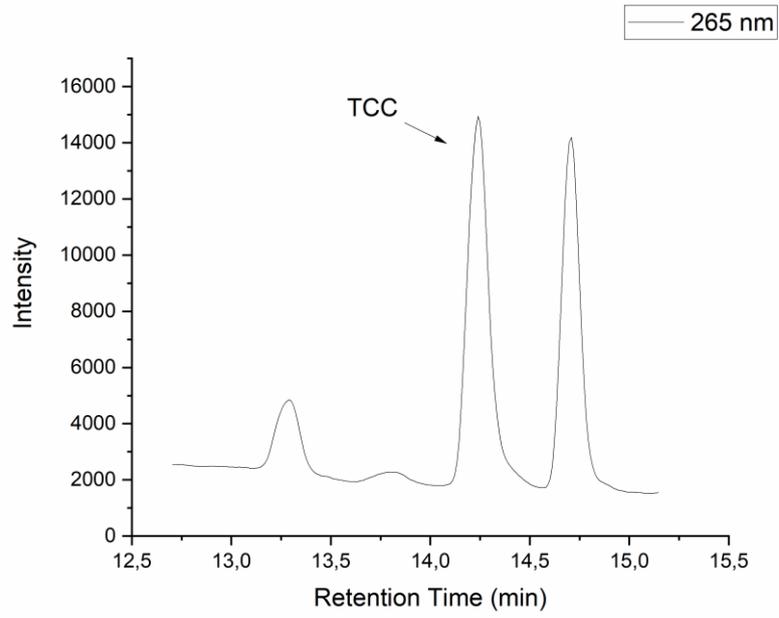
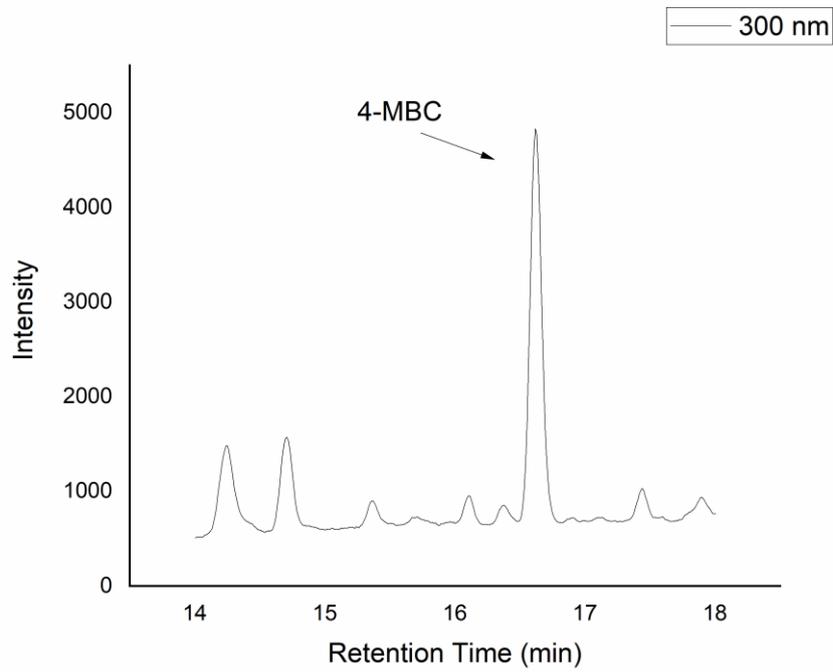
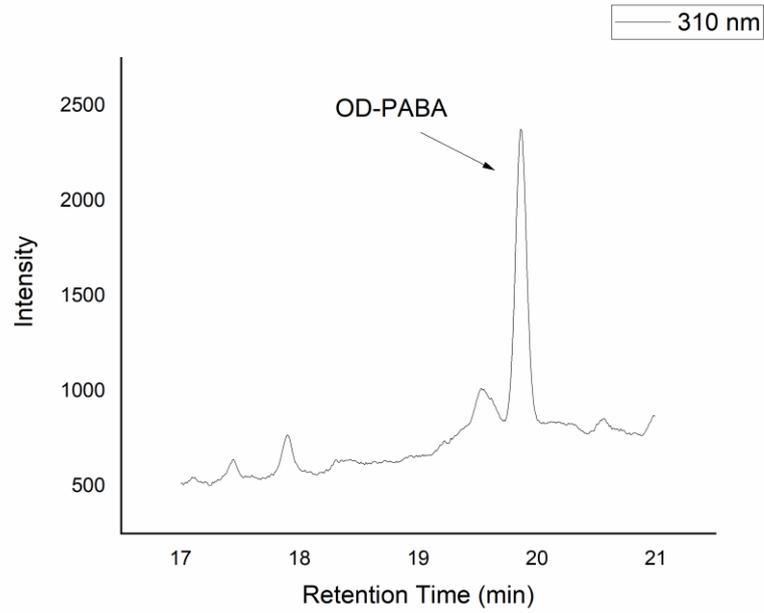
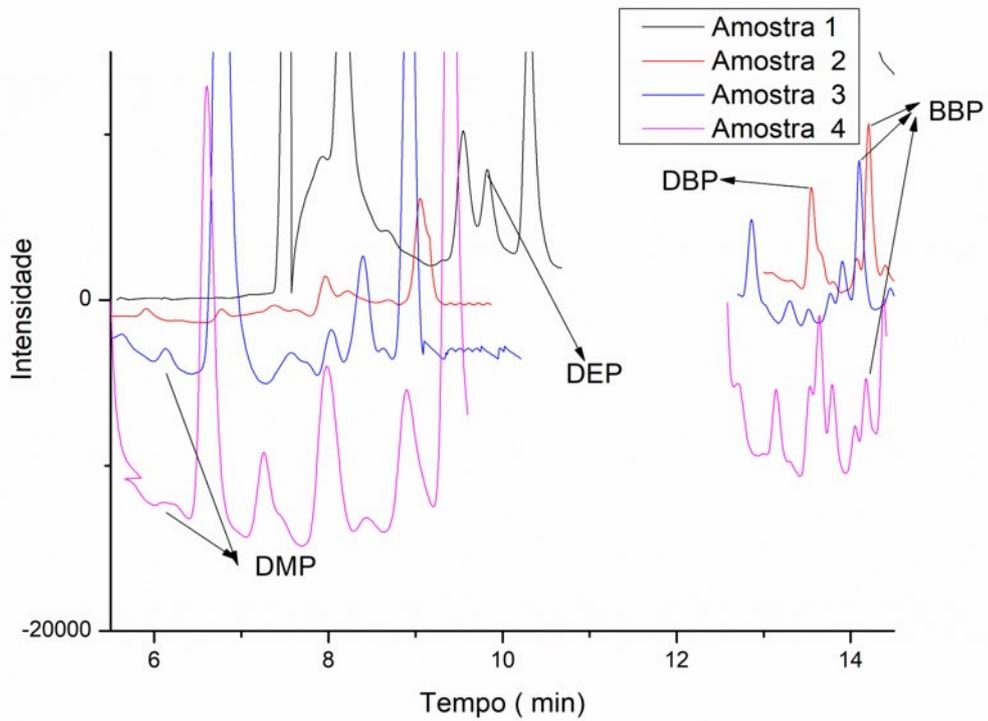
Figura A5 - Cromatograma em 265 nm foco no Triclocarban (TCC).**Figura A6** – Cromatograma em 300 nm foco no 4-MBC.

Figura A7 – Cromatograma em 310 nm foco em OD-PABA.**Figura A8** – Cromatogramas relativos à análise das amostras de águas saborizadas gaseificadas.

ATIVIDADES DESENVOLVIDAS NO PERÍODO DO DOUTORADO

1. Publicações

MORELLI, Diogo C.; MAFRA, Gabriela; SANTOS, Amanda V.; MERIB, Josias; CARASEK, Eduardo. Designing a green device to BA μ E: recycled cork pellet as extraction phase for the determination of parabens in river water samples. *Talanta*, [S.L.], v. 219, p. 121369, nov. 2020.

MORELLI, Diogo C.; BERNARDI, Gabrieli; MORÉS, Lucas; PIERRI, Maria E.; CARASEK, Eduardo. A green - high throughput –extraction method based on hydrophobic natural deep eutectic solvent for the determination of emerging contaminants in water by high performance liquid chromatography – diode array detection. *Journal of Chromatography A*, [S.L.], v. 1626, p. 461377, ago. 2020.

CARASEK, Eduardo; BERNARDI, Gabrieli; MORELLI, Diogo; MERIB, Josias. Sustainable green solvents for microextraction techniques: recent developments and applications. *Journal of Chromatography A*, [S.L.], v. 1640, p. 461944, mar. 2021.

2. Orientações e Colaborações

Amanda Zimmermann. APLICAÇÃO DA CORTIÇA COMO FASE EXTRATORA PARA MICROEXTRAÇÃO ADSORTIVA EM BARRA (BA μ E): DETERMINAÇÃO DE HIDROCARBONETOS POLICÍCLICOS AROMÁTICOS (HPAs) EM AMOSTRAS DE ÁGUA DA LAGOA DO PERI. 2022. Trabalho de Conclusão de Curso. (Graduação em Química) - Universidade Federal de Santa Catarina.

Alejandra Molina Balmaceda. APLICAÇÃO DE BIOCÁRVÕES DE ABACATE E TORANJA EM TÉCNICAS DE MICROEXTRAÇÃO PARA A DETERMINAÇÃO DE CONTAMINANTES EMERGENTES. Tese de doutorado – Universidade do Chile.

3. Atividades Acadêmicas

2020- 2022 Representante discente no colegiado delegado do Programa de pós-graduação em química.

2021 Organização da X Semana da Pós-Graduação em Química da UFSC- Evento de comemoração aos 50 anos do PPGQ.

4. Cursos Online

CIÊNCIA DIGITAL CURSO 1 - Introdução ao AMBIENTE MOODLE. (Carga horária: 20h). Universidade Federal de Santa Catarina, UFSC, Brasil.

Teaching in University Science Laboratories (Developing Best Practice). (Carga horária: 12h). University of Amsterdam, UVA, Holanda.

Curso Avançado de Moodle para o Ensino de Ciências. (Carga horária: 20h). Universidade Federal de Santa Catarina, UFSC, Brasil.

Chemicals and Health. (Carga horária: 18h). Johns Hopkins University, JHU, Estados Unidos.

Curso de Produção de Videoaulas para Ensino de Ciências. (Carga horária: 20h). Universidade Federal de Santa Catarina, UFSC, Brasil.