



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CAMPUS DAVI FERREIRA LIMA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

Gabriela Westphal Vieira

**Determinação de sulfonamidas em amostras de água de rio por
extração em ponteira paralela descartável (Pa-DPX) usando biossorvente
como fase extratora alternativa**

Florianópolis

2023

Gabriela Westphal Vieira

**Determinação de sulfonamidas em amostras de água de rio por
extração em ponteira paralela descartável (Pa-DPX) usando biossorvente
como fase extratora alternativa**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito para a obtenção do título de Mestre em Química Analítica.

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Carasek
Coorientadora: Msc. Camila Will

Florianópolis

2023

vieira, gabriela westphal

Determinação de sulfonamidas em amostras de água de rio por extração em ponteira paralela descartável (Pa-DP / gabriela westphal vieira ; orientador, Eduardo Carasek, coorientador, Camila Will, 2023.

63 p.

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

Inclui referências.

1. Química. 2. dpx . 3. água de rio . 4. sulfonamidas. 5. antibióticos. I. Carasek, Eduardo . II. Will, Camila. III. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Química. IV. Título.

Gabriela Westphal Vieira

Determinação de sulfonamidas em amostras de água de rio por extração em ponteira paralela descartável (Pa-DPX) usando biossorvente como fase extratora alternativa

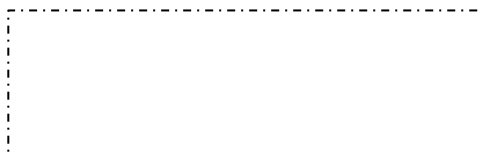
O presente trabalho em nível de Mestrado foi avaliado e aprovado, em 28 de fevereiro de 2023, pela banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Profa. Dra. Adriana Neves Dias
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Catarinense

Prof. Dr. Eduardo Sidnei Chaves
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof. Dr. Luciano Vitali
Universidade Federal de Santa Catarina

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



Coordenação do Programa de Pós-Graduação



Prof. Dr. Eduardo Carasek
Orientador(a)

Florianópolis, 2023

Dedico este trabalho a quem esteve comigo enquanto eu pesquisava.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao Professor Dr. Eduardo Carasek pela oportunidade de ter feito o mestrado em seu laboratório e pela ajuda no processo. Agradeço a ajuda fundamental da Doutoranda Camila Will que sem ela junto eu não conseguiria ter desenvolvido todo o meu trabalho, que esteve presente não só no laboratório como online e offline para me ajudar sempre que possível. Agradeço também aos demais colegas do laboratório (CROMAAS) que de alguma forma me auxiliaram no processo.

A melhor ideia de ter uma boa ideia é ter várias boas ideias.

(PAULING)

RESUMO

As sulfonamidas são absorvidas oralmente pelos seres humanos, através do uso de diferentes antibióticos, sendo a maioria delas metabolizadas pelo fígado e excretada pelos rins. Esses analitos podem ser facilmente transportados para cursos d'água (água fluvial nesta pesquisa) devido ao seu baixo potencial de sorção para locais de troca orgânica e/ou mineral do solo. As amostras de água do rio podem ser muito complexas devido à presença de interferências que podem afetar os resultados. A preparação da amostra é uma etapa fundamental para eliminar possíveis interferências e com as concentrações encontradas muito baixas, muitas vezes não reconhecidas no equipamento, é possível uma pré-concentração com níveis mais elevados. Uma técnica relativamente nova é a extração em ponteira descartável (DPX), com poucos estudos na área. Este tipo de metodologia é uma alternativa interessante com menor tempo de desenvolvimento, baixo consumo de amostra e reagente. Neste trabalho foi utilizado o dispositivo Pa-DPX que permite que todos os procedimentos sejam realizados com cinco amostras simultâneas (em paralelo), dispensando a repetição de cada procedimento um por vez. A ponteira utilizada não tem fase comercial inclusa, possibilitando o uso de uma fase extratora alternativa, um biossorvente, neste trabalho a cortiça. Assim, foi desenvolvido um método para a extração de cinco compostos de sulfonamidas em amostras de água de rio, sulfadiazina (SDZ), sulfatiazol (STZ), sulfamerazina (SMR), sulfametoxazol (SMTX), sulfametoxipiridazina (SMP). O procedimento foi otimizado com planejamentos *Dohler* para ciclos de extração e dessorção, pH, porcentagem de sal e massa da fase extratora. Foi utilizado um planejamento *simplex lattice* para solvente e os principais parâmetros analíticos foram obtidos através da construção de curvas de calibração com adição de padrão externo para cada analito. Todos os R^2 foram maiores que 0,95 com LOD de $7 \mu\text{g L}^{-1}$ e LOQ de $25 \mu\text{g L}^{-1}$. Os valores de precisão intradia ($n=3$) e interdía ($n=9$) tiveram RSD abaixo de 14 e 20% respectivamente. Os resultados de recuperação relativa foram feitos com variações de 80 a 118%. Após finalizar todas as avaliações do método, foi possível aplicá-lo em amostras reais e comparar com outras metodologias encontradas na literatura. Assim, o método DPX mostrou-se eficaz como alternativa para a extração e análise de sulfa em águas fluviais.

Palavras-chave: sulfonamides; água de rio; DPX; antibióticos.

ABSTRACT

Sulfonamides are absorbed orally by humans using different antibiotics, and most of them are metabolized by the liver and excreted by the kidneys. These analytes can be easily transported into waterways (river water in this research) due to their low sorption potential to soil organic and/or mineral exchange sites. River water samples can be very complex due to the presence of interferences that can affect the results. Sample preparation is a key step to eliminate possible interferences and with concentrations found very low, often not recognized in the equipment, pre-concentration at higher levels is possible. A relatively new technique is the disposable tip extraction (DPX), with few studies in the area. This type of methodology is an interesting alternative with shorter development time, low sample and reagent consumption. In this work we used the Pa-DPX device, which allows all procedures to be performed with five simultaneous samples (in parallel), avoiding the repetition of each procedure one at a time. The tip used has no commercial phase included, allowing the use of an alternative extracting phase, a biosorbent, in this work cork. Thus, a method was developed for the extraction of five sulfonamide compounds in river water samples, sulfadiazine (SDZ), sulfathiazole (STZ), sulfamerazine (SMR), sulfamethoxazole (SMTX), sulfamethoxypyridazine (SMP). The procedure was optimized with Dohrlert planning for extraction and desorption cycles, pH, salt percentage and mass of the extractant phase. A simplex lattice planning for solvent was used and the main analytical parameters were obtained by constructing calibration curves with addition of external standard for each analyte. All R^2 were greater than 0.95 with LOD of $7 \mu\text{g L}^{-1}$ and LOQ of $25 \mu\text{g L}^{-1}$. The intraday ($n=3$) and interday ($n=9$) precision values had RSD below 14 and 20% respectively. The relative recovery results were made with ranges from 80 to 118%. After finalizing all evaluations of the method, it was possible to apply it to real samples and compare it with other methodologies found in the literature. Thus, the DPX method was shown to be effective as an alternative for the extraction and analysis of sulfa in river water.

Keywords: sulfonamides; river water; DPX; antibiotics.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Comportamento anfótero das sulfonamidas _____ 19
- Figura 2 – Representação geral da molécula de sulfonamida em sua forma neutra, com representação do grupamento ácido e básico, onde R representa uma ramificação característica. N1 como nitrogênio da amina e N2 da parte da amida. _____ 19
- Figura 3 - Curva de distribuição de espécies para as sulfonamidas relacionando porcentagem de ionização e pH do meio, indicando quando está em sua forma catiônica, aniônica ou neutra. _____ 19
- Figura 4 - Gráfico absorvância x comprimento de onda (nm) de absorção no UV/VIS da sulfadiazina, exemplificando as sulfonamidas. _____ 20
- Figura 5 - Ponteira utilizada neste trabalho com o disco superior (a) e o filtro inferior (b). _____ 25
- Figura 6 - Esquema representativo do funcionamento da DPX e suas etapas. ____ 26
- Figura 7 - Esquema representativo do aparato manual da Pa-DPX. _____ 29
- Figura 8 - Fórmula estrutural da suberina presente na cortiça. _____ 31
- Figura 9 - Fórmula estrutural da lignina presente na cortiça. _____ 32
- Figura 10 - Estrutura celular da cortiça (a) secção tangencial, (b) secção radial e (c) secção transversal. _____ 32
- Figura 11 - Esquema de preparo do pó de cortiça após a rolha da garrafa de vinho ter sido limpa. _____ 37
- Figura 12 - Superfície de respostas obtido para a escolha do melhor solvente de dessorção (MeOH, H₂O UP pH 10 e ACN). Amostra: água UP fortificada em 300 µg L⁻¹ com a mistura de sulfonamidas, pH ajustado em 5, 10% de sal (m/v), 5 ciclos de extração de 1500 µL. Para a dessorção foram utilizados 5 ciclos de 250 µL de cada solvente e 20 mg de pó de cortiça como fase extratora. _____ 41
- Figura 13 - Superfície de resposta do planejamento *Doehlert* de ciclos de dessorção e volume do solvente de dessorção. Condições fixadas para extração: 5 ciclos de 1,5 mL de amostra de H₂O UP fortificada em 300 µg L⁻¹, com pH ajustado em 5 e 10% de NaCl, 20mg de cortiça na ponteira. _____ 43
- Figura 14 - Superfície de resposta do planejamento *Doehlert* de porcentagem de sal e pH da amostra. Condições de extração: 3 ciclos de 2 mL de amostra fortificada

em $300 \mu\text{g L}^{-1}$, com 7 ciclos de dessorção de 200 uL de uma mistura de $\text{H}_2\text{O UP}$ e ACN (1:1) com pH 10. Fase extratora: 20 mg de cortiça. _____ 45

Figura 15 - Superfície de resposta *Doehlert* da massa de cortiça e ciclos de extração.

Condições fixadas de extração: 2 mL de amostra fortificada em $300 \mu\text{g L}^{-1}$, pH ajustado em 5 e 20% NaCl (m/v). Dessorção: 7 ciclos de 200 uL de uma mistura de $\text{H}_2\text{O UP}$ com pH 10 e ACN (1:1). _____ 46

Figura 16 - Cromatogramas relacionando os picos de uma amostra (Rio Papaquara)

fortificada com a mistura de sulfonamidas com concentração de $300 \mu\text{g L}^{-1}$ injetadas diretamente no equipamento (linhas azuis) e após o preparo de amostras com a metodologia deste trabalho (linhas vermelhas). Comprimento de onda de 270 nm. Tempo de retenção das sulfonamidas: 5,31; 5,90; 7,72; 10,25 e 10,61 minutos. _____ 48

Figura 17 - Cromatogramas com amostra Papaquara e amostra fortificada em $300 \mu\text{g}$

L^{-1} , ambas no comprimento de 270 nm. _____ 51

Figura 18 - Cromatogramas com amostra do Rio Araújo e amostra fortificada em 300

$\mu\text{g L}^{-1}$, ambas no comprimento de 270 nm. _____ 51

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 - Dados de pka e log P das sulfonamidas interesse, nomenclatura, fórmula molecular e estrutural. _____ 21
- Tabela 2 - Outros trabalhos que detectaram sulfonamidas em matrizes ambientais. _____ 22
- Tabela 3 - Tabela contendo outros trabalhos encontrados na literatura com uso da técnica de DPX, apresentando fase extratora, matriz, composto, instrumentação (inst.) e referências. _____ 28
- Tabela 4 - Trabalhos encontrados na literatura que utilizam a cortiça em diferentes formatos como fase extratora. _____ 30
- Tabela 5 - Eluição por gradiente indicando a proporção e o tempo (minutos) na análise de sulfonamidas no HPLC-DAD. _____ 35
- Tabela 6 - Planejamento *simplex lattice* para definir o solvente de dessorção. Parâmetros da extração: 5 ciclos de 1,5 mL de água UP fortificada com 300 µg L⁻¹ da mistura de sulfonamidas, amostra ajustada em pH 5, 10% de NaCl. Para dessorção foram utilizados 5 ciclos de 250 µL de solvente. Massa de cortiça na ponteira: 20 mg. _____ 38
- Tabela 7 - Planejamento *Doehlert* relacionando ciclos com volume do solvente de dessorção. Parâmetros da extração: 5 ciclos de 1,5 mL de água UP fortificada com 300 µg L⁻¹ da mistura de sulfonamidas, amostra ajustada em pH 5, 10% de NaCl. Massa de cortiça na ponteira: 20 mg. _____ 39
- Tabela 8 - Planejamento *Doehlert* relacionando pH (2-5) e porcentagem de sal (0-20%). Parâmetros fixados para extração: 3 ciclos de 2 mL de água UP fortificada com uma mistura de sulfonamidas de 300 µg L⁻¹. Para a dessorção: 7 ciclos de 200 µL de uma mistura de ACN e água UP ajustado em pH 10 (proporção de 1:1, v/v). Massa de cortiça: 20 mg. _____ 39
- Tabela 9 - Relação dos parâmetros analisados no *Doehlert* de ciclos de extração e massa de cortiça. Parâmetros fixados para extração: 3 ciclos de 2 mL de água UP fortificada com uma mistura de sulfonamidas em 300 µg L⁻¹, ajustado em pH 5 com 20% de NaCl. Para a dessorção: 7 ciclos de 200 µL de uma mistura de ACN e água UP ajustado em pH 10 (proporção de 1:1, v/v). _____ 40
- Tabela 10 - Coeficiente de correlação, limites de detecção e quantificação, fator de enriquecimento e curva de calibração obtidos para o método proposto para

determinar sulfonamidas em amostra aquosa. Concentrações da curva de calibração de 25, 50, 100, 150, 200, 250 e 300 $\mu\text{g L}^{-1}$ repetidas em triplicatas. 48

Tabela 11 - Dados da precisão intradia realizados em triplicata ao longo do mesmo dia e interdía, realizado em triplicata em três dias seguidos, relacionados com as concentrações que cada amostra foi fortificada. _____	49
Tabela 12 - Dados da recuperação relativa e RSD da amostra. _____	50
Tabela 13 - Comparativo com outros trabalhos encontrados na literatura. _____	54

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Pa-DPX – Parallel DPX

DAD – Detector por Arranjo de Diodos (do inglês "Diode Array Detection")

DPX – Extração com ponteira descartável (do inglês "Disposable pipette extraction")

HPLC – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (do inglês "High- Performance Liquid Chromatography")

HPLC-DAD – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com Detector por Arranjo de Diodos (do inglês "High-Performance Liquid Chromatography with Diode Array Detection")

GC – Cromatografia Gasosa (do inglês "Gas Chromatography")

Sas – Sulfonamidas

SDZ – Sulfadiazina

STZ – Sulfatiazol

SMR – Sulfamerazina

SMTX – Sulfametoxazol

SMP – Sulfametoxipiridazina

LOD – Limite de detecção (do inglês "limit of detection")

LOQ – Limite de quantificação (do inglês "limit of quantification")

R(%) – Ensaio de recuperação

RSD(%) – Desvio Padrão Relativo (do inglês "Relative Standard Deviation")

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
2.1 Sulfonamidas	18
2.2 Preparo de amostras	23
2.3 Extração em ponteira descartável	25
2.4 Cortiça	29
3 OBJETIVOS	34
3.1. Objetivos gerais	34
3.2. Objetivos específicos	34
4 METODOLOGIA	35
4.1 Instrumentação	35
4.2 Reagentes	36
4.3 Preparo da cortiça em pó	36
4.4 Preparo das ponteiras	37
4.5 Limpeza das ponteiras	37
4.6 Amostras de água	37
4.7 Otimizações de dessorção e extração	38
4.8 Parâmetros analíticos de mérito	40
5 RESULTADOS	41
5.1 Otimizações do preparo de amostra	41
5.1.1 Solvente de dessorção	41
5.1.2 Otimização dos ciclos de dessorção e volume do solvente	42
5.1.3 Otimização do pH e da porcentagem de sal da amostra	44
5.1.4 Otimização da massa de cortiça e ciclos de extração	46
5.2 Obtenção dos parâmetros analíticos de mérito	47
5.3 Determinação nas amostras	50
5.4 Comparação com outros trabalhos	51
6 CONCLUSÃO	56
7 REFERÊNCIAS	57

1 INTRODUÇÃO

“A diferença entre o medicamento e o veneno está na dose” (Paracelso, séc. XVI). Com o avanço da medicina, cada vez mais vem sendo utilizado medicamento diretamente e indiretamente também, seu uso cresce no mundo inteiro a cada ano, diversos tratamentos vêm sendo realizados e muitos problemas de saúde vêm sendo tratados com o avanço da tecnologia farmacêutica. Na biblioteca virtual em saúde disponibilizado no site do Ministério da Saúde (MS), todo mês de novembro, ocorre a Semana Mundial de Conscientização Sobre o Uso de Antibióticos, com a intenção de conscientizar a população sobre o uso indiscriminado de antibióticos.

O MS cita que a resistência antimicrobiana ocorre quando os microrganismos (como bactérias, fungos, vírus e parasitas) mudam quando são expostos a antibióticos, criando as chamadas “multirresistentes” (ANVISA, 2018), deixando os remédios ineficazes já que se forma uma barreira contra o medicamento.

É de conhecimento público que o uso inadequado de medicamentos, antibióticos, é um perigo para a saúde pública podendo levar até a morte. É estimado que 50% de todos os medicamentos usados no mundo são prescritos, dispensados, vendidos ou usados de maneira inapropriada. (World Health Organization, 2004).

Para o Ministério da Saúde (2019) ações importantes para a prevenção dessas bactérias multirresistentes são a prescrição adequada, educação comunitária, monitoramento da resistência e infecções associadas à assistência à saúde e o cumprimento da legislação sobre uso e dispensação de antimicrobianos.

O uso indiscriminado de antibióticos liberados no meio ambiente, a longo prazo pode induzir o surgimento de genes de resistência a antibióticos, que podem ser propagados de microrganismos para descendência ou transferidos entre bactérias por transferência horizontal (LUO *et al.*, 2010; WANG *et al.*, 2020).

Segundo Lima (2017) as águas residuais são contaminadas por fármacos, mais abundantemente os antibióticos e as fontes de contaminação mais encontradas são efluentes urbanos, hospitalares, de fazendas (criação de animais que acabam ingerindo indiretamente fármacos) e de indústrias. Nas matrizes ambientais, são encontrados analitos em concentrações baixas ($\mu\text{g L}^{-1}$), dificultando a extração e posterior detecção, sendo necessário o uso de técnica de preparo de amostras para a identificação dos analitos.

A DPX (extração dispersiva em ponteiras) é um método de extração que vem crescendo muito, já que utiliza pouco solvente, amostra e sorvente. Tem baixo custo e é de fácil uso, porém o maior empecilho desta metodologia, é a execução individual de cada amostra, se tornando um trabalho bastante exaustivo. Para solucionar esse problema de tempo, foi desenvolvido no grupo de trabalho do Professor Dr. Eduardo Carasek, um dispositivo manual utilizado neste trabalho, permitindo a execução simultânea de 5 amostras, nomeado de Pa-DPX (DPX paralela). É possível ainda o uso da DPX branco, com diferentes fases extratoras não comerciais, os biossorventes como uma alternativa verde (HUELSMANN, WILL e CARASEK, 2021).

A composição química da fase extratora influencia diretamente nas interações com o analito, as sulfonamidas apresentam uma composição química que permite uma interação física com a cortiça que é biossorvente selecionado para estudo. A cortiça é um produto 100% natural, renovável e de baixo custo quando reciclado de rolhas de vinho.

Neste trabalho será utilizado o dispositivo Pa-DPX para extração simultânea de cinco amostras, utilizando cortiça como fase extratora para determinação de cinco sulfonamidas, sendo elas sulfadiazina (SDZ), sulfatiazol (STZ), sulfamerazina (SMR), sulfametoxazol (SMTX), sulfametoxipiridazina (SMP) em amostras de água de rio. Assim, uma otimização dos parâmetros que afetam a eficiência do procedimento foi realizada, seguida da validação do método desenvolvido. O método foi aplicado a amostras reais e suas principais características comparadas a outros métodos da literatura a fim de mostrar seus pontos positivos e negativos.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

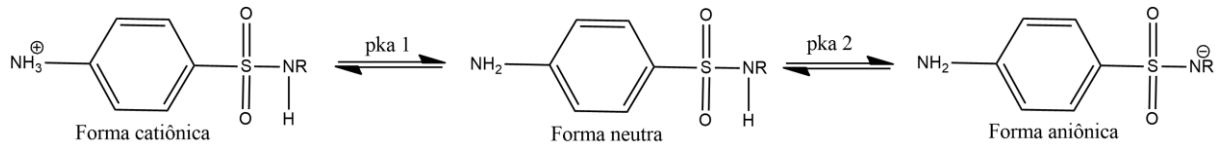
2.1 Sulfonamidas

As sulfonamidas são um grupo de moléculas encontradas na formulação de antibióticos tanto para humanos quanto para animais (CHÁFER-PERICÁS; MAQUIEIRA; PUNCHADES, 2010 e HOFF, 2008), considerando seu amplo uso percebe-se uma importância em estudos para conhecimento de suas propriedades. Segundo o manual da Merck, conhecido no Brasil por MSD: "A maioria das sulfonamidas é prontamente absorvida por via oral e, quando aplicadas são metabolizadas principalmente pelo fígado e excretadas pelos rins" (WERTH, 2018). O precursor das sulfonamidas é a sulfanilamida (*p*-aminobenzenesulfonamida), mais conhecido com o nome comercial de *streptocid*, o qual foi sintetizado pela primeira vez em 1908 e foi amplamente utilizado como um intermediário na produção de corantes (VIEIRA, 2015).

Segundo trabalho de Regitano e Leal (2010), as sulfonamidas podem ser facilmente transportadas até os cursos d'água devido ao seu baixo potencial de sorção aos sítios de troca orgânicos e, ou minerais do solo (HIRSCH *et al.*, 1999; BRYSKIER, 2005 e BOXALL *et al.*, 2002), sendo assim, em amostras de água a possibilidade de encontrá-las é grande, devido a sua estabilidade e solubilidade em meio a esta matriz (QIN, L-T *et al.*, 2020).

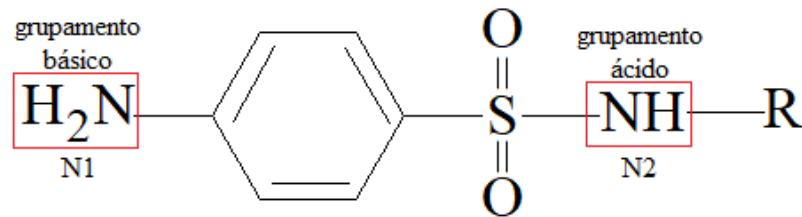
As sulfonamidas apresentam caráter ácido em condições naturais de pH (REGITANO e LEAL 2010), característica importante para análise das etapas do trabalho, como a extração, dessorção e detecção. Elas são moléculas polares com propriedades anfóteras (figura 1), sendo o controle de pH ao longo do trabalho fundamental. Em pH abaixo de 4, temos sua forma catiônica, em pH 5, sua forma molecular e em pH acima de 6 sua forma aniônica. Na figura 2, temos uma representação geral da molécula de sulfonamida em sua forma neutra. O N1, nitrogênio amino, representa o grupamento básico e o N2, nitrogênio amida, ilustrando o grupamento ácido. A desprotonação ocorre em pH acima de 5 (BARAN, *et al.*, 2011) e por conter estas duas funções orgânicas, amina e amida, é possível observar dois valores de pka diferentes.

Figura 1 - Comportamento anfótero das sulfonamidas



Fonte: adaptado de Hoff, 2008.

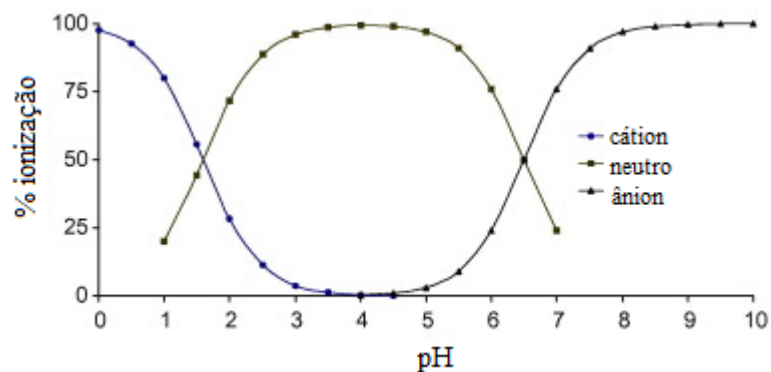
Figura 2 – Representação geral da molécula de sulfonamida em sua forma neutra, com representação do grupamento ácido e básico, onde R representa uma ramificação característica. N1 como nitrogênio da amina e N2 da parte da amida.



Fonte: adaptado de Catelani, 2012

O pH das representações catiônica, aniônica e neutra, importantes para as otimizações, é explicado pela curva de distribuição de espécies (OLIVEIRA, 2007), na figura 3 é possível observar o comportamento das sulfonamidas em diferentes pH.

Figura 3 - Curva de distribuição de espécies para as sulfonamidas relacionando porcentagem de ionização e pH do meio, indicando quando está em sua forma catiônica, aniônica ou neutra.

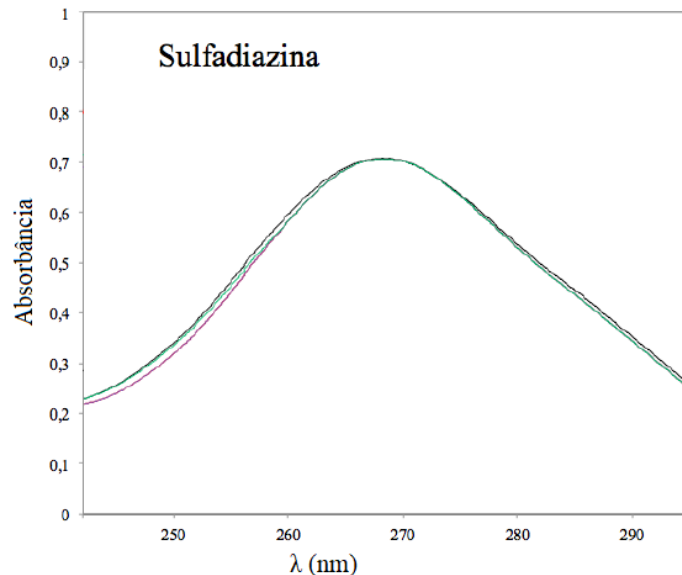
Fonte: adaptado de Sukul *et al.*, 2008.

Segundo um levantamento de trabalhos, por Catelani (2012), a cromatografia é utilizada como técnica de confirmação na maioria dos trabalhos para a análise sulfonamidas. O HPLC-UV, HPLC-DAD, UHPLC-DAD e UHPLC-UV aparecem em levantamento de trabalho feito por Mostafa (2022). O HPLC-DAD apresenta uma faixa

dinâmica ampla, boa para detecção simultânea de compostos e impurezas em níveis traço (BECZE *et al.*, 2022), pode apresentar falta de seletividade, sendo necessário aplicação de procedimentos eficientes de limpeza de matriz ou um detector mais seletivo. O GC acoplado ao MS (GC-MS) poderia ser utilizado por ser relativamente sensível e seletivo, mas as análises de resíduos de rotina não são viáveis porque várias etapas de purificação são necessárias antes da análise de termicamente de sulfonamidas lábeis e não voláteis (SOTO-CHINCHILLA *et al.*, 2006)

O comprimento de onda determinado para análise é de 270 nm (figura 4), pelo espectro de absorção UV/VIS da sulfadiazina (DELGADO *et al.*, 2013) pode ser visto o comprimento de onda que apresenta o melhor resultado. Como temos uma mistura de cinco diferentes sulfonamidas para análise, não é possível discriminar qual o analito encontrado, já que todas elas absorvem luz em comprimento de onda muito próximo, sendo necessário o uso do HPLC para identificar os analitos isoladamente, sendo usado tempos de retenção como diferenciação.

Figura 4 - Gráfico absorbância x comprimento de onda (nm) de absorção no UV/VIS da sulfadiazina, exemplificando as sulfonamidas.

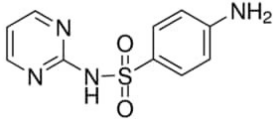
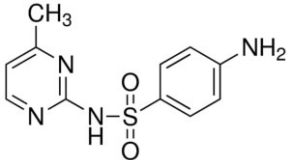
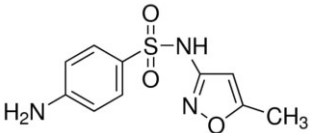
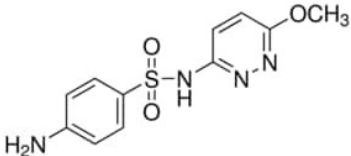
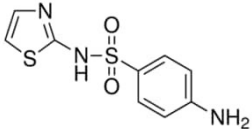


Adaptado de: Delgado *et al.*, 2013.

O coeficiente de partição octanol-água ou log P é um parâmetro para medida quantitativa da lipofilicidade de compostos bioativos, pode ser interpretado como sendo a somatória de dois termos: um relacionado com volume (estéricos) e o outro

com interações intermoleculares (interações dipolo-dipolo e ligações por hidrogênio). É um dos fatores de controle da ação da droga em sistemas biológicos, sendo uma medida importante na previsão da absorção, distribuição e eliminação de drogas no corpo (KAJITANI *et al.*, 2006). Na tabela 1 temos informações sobre pKa e log de P das sulfonamidas estudadas neste trabalho.

Tabela 1 - Dados de pka e log P das sulfonamidas interesse, nomenclatura, fórmula molecular e estrutural.

Nome/Fórmula	Estrutura	pKa	Log P
Sulfadiazina (SDZ) C ₁₀ H ₁₀ N ₄ O ₂ S		6,36	-0,09
Sulfamerazina (SMZ) C ₁₁ H ₁₂ N ₄ O ₂ S		6,99	0,14
Sulfametoxazol (SMTX) C ₁₀ H ₁₁ N ₃ O ₃ S		pKa1: 1,6 pKa2: 5,7	0,89
Sulfametoxipiridazina (SMP) C ₁₁ H ₁₂ N ₄ O ₃ S		7,19	0,32
Sulfatiazol (STZ) C ₉ H ₉ N ₃ O ₂ S ₂		pKa1: 2,2 pKa2: 7,2	0,05

Fonte: log P adaptado HANSCH *et al.* (1995) e Pka adaptado de pubchem.

Um valor negativo para log P significa que o composto tem maior afinidade pela fase aquosa (é mais hidrófilo), já o valor positivo denota um composto mais lipofílico). Quanto menor log P, mais hidrofílico é um composto, as sulfonamidas tem log P muito

próximo a 0, por essa razão é possível explicar a sua solubilidade em água e possibilidade de serem encontradas em matrizes aquosas.

A análise de antibióticos no ambiente representa uma tarefa difícil, pelas concentrações muito baixas ($\mu\text{g L}^{-1}$) e apesar de serem encontrados em amostras de água (tabela 2), a matriz é bastante complexa devido interferentes que podem ser encontrados. O preparo de amostras se torna indispensável, pré-concentrando os analitos e deixando-os em concentrações possíveis de serem detectadas.

As concentrações no ambiente dependem da alteração da matriz e dos diferentes tipos de sulfonamidas (GARCÍA-GALÁN, DÍAZ-CRUZ e DAMIÀ-BARCELÓ, 2010). Na tabela 2 (abaixo) é possível encontrar matrizes já pesquisadas com as respectivas concentrações encontradas. Estes analitos podem permanecer no ambiente por muito tempo e são ativos na geração de resistência a drogas em células bacterianas (BARAN *et al.*, 2011).

Tabela 2 - Outros trabalhos que detectaram sulfonamidas em matrizes ambientais.

Analito	Concentração	Matriz	Referência
Sulfametoxazol	0,098 $\mu\text{g L}^{-1}$	Água superficial	Christian <i>et al.</i> (2003)
	0,22 $\mu\text{g L}^{-1}$	Água subterrânea	Lindsey <i>et al.</i> (2001)
	1,02 $\mu\text{g L}^{-1}$	Água superficial	Lindsey <i>et al.</i> (2001)
	0,22 $\mu\text{g L}^{-1}$	Água superficial	Kergoat <i>et al.</i> (2021)
	0,0475 $\mu\text{g L}^{-1}$	Água do mar	Minh, <i>et al.</i> (2009)
	12,8 $\mu\text{g L}^{-1}$	Água residual de hospital	Lindberg, <i>et al.</i> (2004)
	8,5 $\mu\text{g L}^{-1}$	Água consumível	Schwab, <i>et al.</i> (2005)
Sulfadimidina	19,2 $\mu\text{g L}^{-1}$	Água de superfície	Managaki, <i>et al.</i> (2007)

Fonte: autoria própria (2022).

Existem resoluções vigentes de quantidades de sulfonamidas que podem ser encontradas em matrizes animais como fígado, rim, leite em alimentos de origem bovina, suína e aves. Nas matrizes ambientais, água, não existem dados indicando a concentração permitida, porém publicações recentes da Agência de Proteção

Ambiental dos Estados Unidos (U.S. Environmental Protection Agency - EPA) apresenta as sulfonamidas como contaminantes emergentes que causam preocupação (VIEIRA, 2015). Nos próximos anos é esperada a criação de leis vigentes para controle desta classe de antibióticos em matrizes ambientais.

Em relação aos pesticidas (REGITANO e LEAL, 2010), que são as moléculas mais estudadas do ponto de vista de comportamento ambiental, os antibióticos apresentam de forma geral, maiores valores de solubilidade em água e menores valores de coeficiente de partição octanol-água, provavelmente devido à presença de muitos grupos funcionais ionizáveis que sugere que essas moléculas apresentam menor potencial de bioacumulação e maior mobilidade no solo em razão do seu menor caráter hidrofóbico.

2.2 Preparo de amostras

Para Borges, Pereira e Mano (2015) o preparo de amostras é uma etapa importante para extrair, isolar e concentrar os analitos que muitas vezes são encontrados, na matriz, em concentrações tão baixas que não são detectadas pelo equipamento de análise. Esta etapa aumenta a seletividade e melhora a detectabilidade (CAMPOS *et al.*, 2015; PINTO e QUEIROZ, 2015). Além disso, matrizes complexas, como águas oriundas da natureza, não devem ser introduzidas diretamente no instrumento analítico, pela possibilidade de possuir materiais particulados que podem danificar o instrumento de análise, sendo assim o pré-tratamento e preparo dessas amostras é uma etapa essencial (TURAZZI, 2019).

Para obter bons resultados e garantir o sucesso de qualquer método analítico, na etapa de preparo de amostra deve-se considerar o tipo de analito, suas propriedades físico-químicas (solubilidade, volatilidade, polaridade) e os componentes da matriz (BOYACI *et al.*, 2015). Algumas técnicas vêm sendo mais utilizadas e ao longo do tempo sofrem atualizações tornando o trabalho mais acessível, com a intenção de extrair os mais diferentes analitos em diversas condições, dentre elas, as técnicas clássicas como extração líquido-líquido (do inglês "*liquid-liquid extraction*" - LLE) e a extração em fase sólida (do inglês "*solid phase extraction*" - SPE).

A decisão de qual método de preparo de amostras utilizar é difícil e depende do analito e matriz envolvidos, é importante fazer a escolha com base em simplicidade,

baixo custo, facilidade de manipulação, que seja o mais ecológico possível e com possibilidade de automatização para análise de rotina. A escolha correta da fase extratora e eluentes utilizados também é importante, já que, determinarão o quão eficiente e seletivo será o procedimento (OLIVEIRA, 1999 e MARTINS, 2015). Um levantamento feito por Baku (2021) traz como desvantagem dos métodos clássicos a quantidade de solvente, amostra e sorvente, a realização em mais de uma etapa, tornando-os mais trabalhoso.

O método de extração LLE apesar de ter uma boa separação, e ser fácil de ser feito, apresenta como um grande problema o uso de grandes quantidades de solventes (KANU, 2021), que consiste em cada etapa uma lavagem com um volume de solvente sendo adicionado e descartado logo depois (TURAZZI, 2019). Por estas razões, outros métodos foram sendo desenvolvidos ao longo dos anos, como a SPE e a microextração em fase sólida (do inglês "*solid phase microextraction*" - SPME).

Na SPE, alternativa para substituir a LLE, a intenção é isolar e pré-concentrar os analitos entre uma fase sólida (extratora) e uma líquida (solvente de eluição), a retenção dos analitos escolhidos é por adsorção na fase extratora ou na solubilização do solvente de eluição (OLIVEIRA, 1999 e ANDRADE-EIROA, 2016). A SPE apresenta algumas desvantagens, sendo elas, maior complexidade, método demorado e mais caro já que os cartuchos podem ser usados uma única vez, seletividade limitada, além de ainda utilizar muito solvente e sorvente (PLOTKA-WASYLKA *et al.*, 2016).

Para corrigir essas desvantagens e tornar as técnicas de preparo de amostras mais sustentáveis e baratas, diminuindo o gasto com solventes e descartes, surgiram as técnicas de microextração (PRIETO *et al.*, 2011; PENA-ABAURREA; LA TORRE e RAMOS, 2013) que apresentam vantagens como a integração de vários passos em um só (amostragem, extração, pré-concentração e introdução dos analitos no sistema cromatográfico), e vem sendo utilizadas como substitutas as extrações em maior escala (IDE, 2018). A SPME emprega uma fibra revestida como fase extratora e vem como uma técnica simples, rápida, sem uso de solventes e reproduzível (MOUSAVI, BOJKO e PAWLISZYN, 2018), ainda é possível a automatização.

Outra técnica miniaturizada é a extração em ponteira descartável (do inglês "*Disposable pipette extraction*" - DPX) sendo sucessora da SPE, com a separação por

afinidade como ponto em comum, usando pouco material sorvente e solvente, sendo um equipamento bastante simples, uma ponteira, podendo ser automatizada (CARASEK, MORÉS e HUELSMANN, 2022). A técnica vem ganhando espaço em diversos trabalhos, devido a possibilidade de alterar a fase extratora de acordo com o analito (branco). As principais áreas segundo Pinto e Queiroz (2015) que a técnica vem sendo utilizada, são a forense (drogas de abuso) e a de contaminação de alimentos (pesticidas principalmente).

2.3 Extração em ponteira descartável

A DPX foi desenvolvida no ano de 2003 pelo Dr. William Brewer da Universidade da Carolina do Sul, EUA, como uma modificação da técnica de SPE sob o número de patente US6566145. A técnica surgiu com a intenção de otimizar o tempo de extração, com a simplificação do preparo de amostras, menos manipulação de amostra, sorvente e solvente. (BORDIN *et al.* 2016).

O princípio de funcionamento da DPX é com a extração ocorrendo entre a interação dos analitos com o sorvente, e para a dessorção há a interação dos analitos com os solventes orgânicos (HUELSMANN *et al.*, 2020). As ponteiras são geralmente de 1-5 mL.

O aparato de Brewer, consiste em uma ponteira (figura X) de material plástico, o filtro superior um disco de membrana semipermeável e o filtro inferior é um polímero poroso. A finalidade do filtro inferior é permitir que os fluidos (amostras/solventes/ar) sejam aspirados e liberados sem perder o sorvente. Para o filtro superior, sua função é não deixar o conteúdo dentro dele escapar ou ocorrer contaminação (PINTO e QUEIROZ, 2015; BORDIN *et al.* 2016).

Figura 5 - Ponteira utilizada neste trabalho com o disco superior (a) e o filtro inferior (b).

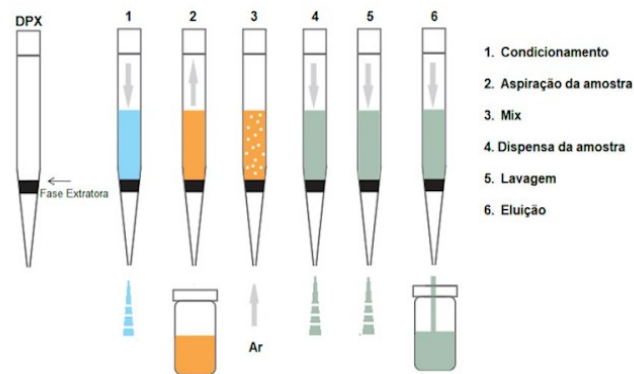


Fonte: autoria própria, 2022.

O condicionamento da fase extratora com solvente ou mistura deles é feita para ativação dos sítios de sorção, após esta etapa, a amostra é aspirada passando pelo filtro inferior junto com o ar, onde ocorre a mistura dinâmica com a fase extratora. Essa passagem da amostra pode ocorrer em mais de um ciclo, dependendo da necessidade, e a cada aspiração é feito um descarte (CARASEK, MORÉS e HUELSMANN, 2022).

Após esse procedimento é feita uma nova aspiração com o solvente (ou mistura) de dessorção, podendo ocorrer em um ou mais ciclos. O solvente de dessorção é dispensado em um mesmo frasco onde vai ser aspirado novamente quantas vezes forem necessárias, e no último ciclo, é colocado em um novo frasco adequado para que seja injetado no equipamento escolhido (CARASEK, MORÉS e HUELSMANN, 2022; PINTO e QUEIROZ, 2015). Na figura 3 é possível ver um esquema das etapas de uso da DPX.

Figura 6 - Esquema representativo do funcionamento da DPX e suas etapas.



Fonte: Adaptado de Oliveira e Lanças, 2018.

As etapas que fazem parte da DPX, permitem otimizações dos parâmetros envolvidos, determinando qual a melhor condição para extração. Fase extratora, solvente de dessorção, número de ciclos de extração e dessorção, volume da amostra e do solvente, pH da amostra, quantidade de sal e tempo de equilíbrio, são fatores que podem ser variados (CARASEK, MORÉS e HUELSMANN, 2022). Quando comparada à SPE, requer menor massa de material sorvente, menor quantidade de solvente, além de dispensar a utilização de vácuo (PINTO e QUEIROZ, 2015).

Pelas vantagens apresentadas, a técnica vem ganhando bastante espaço no preparo de amostras (CARASEK, MORÉS e HUELSMANN, 2022). Devido a sua versatilidade de escolha das fases extratoras, as ponteiras com fase alternativa geralmente são produzidas em laboratório, com foco em pesquisas variadas de acordo com o analito estudado. Considerando o alto custo das empresas para comercializar alguns materiais e muitas vezes o difícil acesso para compra, desta maneira é importante buscar alternativas mais sustentáveis.

As fases extratoras comerciais mais utilizadas são C18, RP, WAX. A ponteira sem fase extratora inclusa é conhecida como branco, possibilitando qualquer outra fase alternativa, como biossorventes. Os diferentes equipamentos para análise dos analitos, levam em consideração sua natureza, as concentrações e a metodologia do preparo de amostras.

A tabela 3 traz alguns trabalhos encontrados na literatura. onde a DPX foi aplicada com diferentes fases extratoras em amostras biológicas (MONTESANO *et al.*, 2014; PINTO, DE SOUZA e QUEIROZ, 2017), amostras alimentícias (JUNIOR, DOS SANTOS e DE FARIAS, 2020) e amostras ambientais (OLIVEIRA *et al.*, 2014). Na mesma tabela é possível obter as informações mais relevantes do trabalho como fase extratora, matriz, analito e equipamento utilizado para a análise.

Tabela 3 - Tabela contendo outros trabalhos encontrados na literatura com uso da técnica de DPX, apresentando fase extratora, matriz, composto, instrumentação (inst.) e referências.

Fase Extratora	Matriz	Composto	Inst.	Referências
C18	Líquido cefalorraquidiano	Anandamida	UHPLC-MS/MS	Oliveira, Marchioni e Queiroz (2019)
C18	Urina	Canabidiol	Hidrólise enzimática	Montesano <i>et al.</i> (2014)
C18	Plasma de pacientes esquizofrênicos	Antipsicótico Antidepressivo Anticonvulsivante	LC-MS/MS	Pinto, de Souza e Queiroz (2017)
Estireno divinilbenzeno	Líquido sinovial sintético	Dexametasona	HPLC/UV	Machado <i>et al.</i> (2021)
Si(PGDMS)*	Suco de laranja	Resíduo de carbendazin	HPLC/DAD	Junior, dos Santos e de Farias (2020)
RP	Urina	THCc	GC-MS	Schroeder <i>et al.</i> (2008)
Sílica	Esterco (massa)	Contaminação fecal	GC-MS	Morelli <i>et al.</i> (2020)
WAX	Pesticida	Água (consumo)	HPLC-DAD	Corazza <i>et al.</i> (2019)
CX1	Urina	Drogas de abuso	GC-MS	Ellison, Brewer e Morgan (2009)
Pó de cortiça (Pa-DPX)	Água de rio	Sulfonamidas	HPLC-DAD	Este trabalho

*PGDMS: poli(glicidoxipropilmetil-co-dimetilsiloxano).

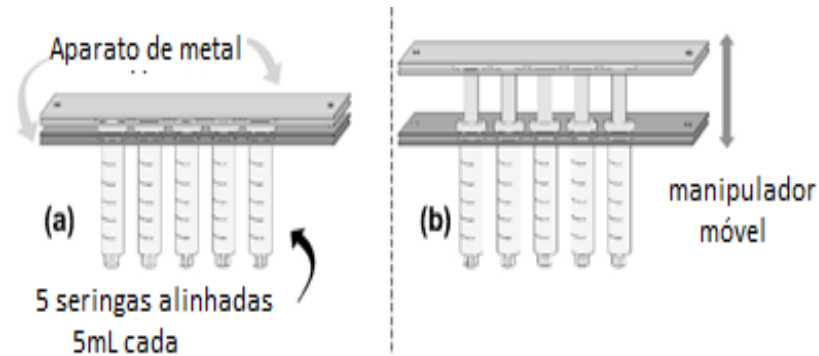
Fonte: autoria própria (2022).

A montagem da ponteira deve ser feita com cuidado, utilizando a massa da fase extratora com precisão. O condicionamento para ativação dos sítios sorventes e limpeza são etapas que também devem estar presentes no preparo delas. Neste trabalho o biossorvente escolhido foi a cortiça.

Para otimização do tempo da DPX, foi desenvolvido um dispositivo (figura 4) possibilitando a extração simultânea de cinco amostras, a Pa-DPX (do inglês *parallel-*

disposable pipette extraction) foi proposta por Huelsmann *et al* (2020), aumentando a frequência analítica e minimizando erros humanos no processo.

Figura 7 - Esquema representativo do aparato manual da Pa-DPX.



Fonte: adaptada e traduzida de Huelsmann *et al.*, 2020.

Na parte (a) vemos as cinco seringas alinhadas, que funcionam simultaneamente, com um aparato de metal móvel, que é levantado em (b). Para descarte da amostra, após ser aspirada, é necessário abaixar o manipulador móvel. O processo é repetido quantas vezes forem necessárias, sempre levantando o manipulador para aspiração e abaixando para descarte.

2.4 Cortiça

Segundo Dias (2015), existem diversos materiais encontrados no ambiente formados por macromoléculas que contêm vários grupos funcionais hábeis para interagir com compostos através de diferentes fenômenos como sorção, complexação e troca iônica. Os materiais com essas características são conhecidos como biossorventes (DEMIRBAS, 2008), o uso destes, como a cortiça tem sido explorado principalmente para determinação de compostos orgânicos em matrizes biológicas e ambientais.

A cortiça é um produto natural, renovável e proveniente da casca de uma espécie chamada Sobreiro (*Quercus Suber*) que produz tecidos vegetais constituídos em sua maioria em células suberizadas, as quais são impermeáveis e resistentes a vários agentes externos (LEITE, 2016). Com essa característica de ser facilmente encontrada na natureza, e com baixo custo quando reciclada de rolhas de vinho, vem

crescendo seu uso como fase extratora. A tabela 4 traz alguns trabalhos que utilizaram este biossorvente.

Tabela 4 - Trabalhos encontrados na literatura que utilizam a cortiça em diferentes formatos como fase extratora.

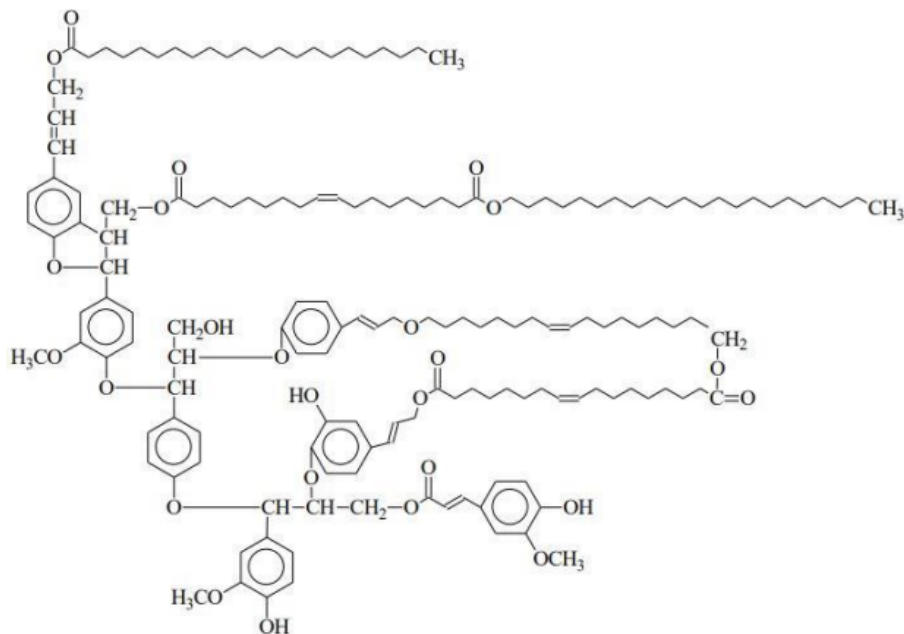
Matriz	Analito	Instrumento	Formato da cortiça	Referência
Refrigerantes e fármacos	Cafeína	Determinação voltamétrica (sensor eletroquímico cortiça/grafite)	pó	Monteiro <i>et al.</i> , (2019)
Urina	Fármacos	DPX (HPLC-DAD)	pó	Mafra <i>et al.</i> , (2018)
Água de rio	3-(4-Metilbenzilideno) cânfora e 2-Etilhexil 4-(Dimetilamino) benzoato	GC-MS	pó	Silva, Dias e Carasek (2017)
Conteúdo ileal de suinocultura	Aminoácidos	Analizador de aminoácidos	pó	Marini (2018)
Água residual	Hormônios	GC	filme	Manzo <i>et al.</i> , (2019)
Sangue	Drogas de abuso e psicoativos	LC-MS/MS	pó	Birk, Eller e de Oliveira (2022)
Água de rio	Hidrocarboneto policíclico aromático	SPME GC-MS	fibra	Dias <i>et al.</i> , (2013)
Urina	Drogas de abuso e biomarcadores	HPLC-DAD	pó	Morés (2022)
Água de rio	Sulfonamidas	HPLC-DAD	pó	este trabalho

Fonte: autoria própria (2022).

Segundo Gil (1998), a cortiça é constituída de suberina (45% - responsável pela elasticidade), lignina (27% - composto isolante), polissacáridos (12% - ajudam a definir a textura), taninos (6% - responsáveis pela cor) e coroides (5% - asseguram a impermeabilidade).

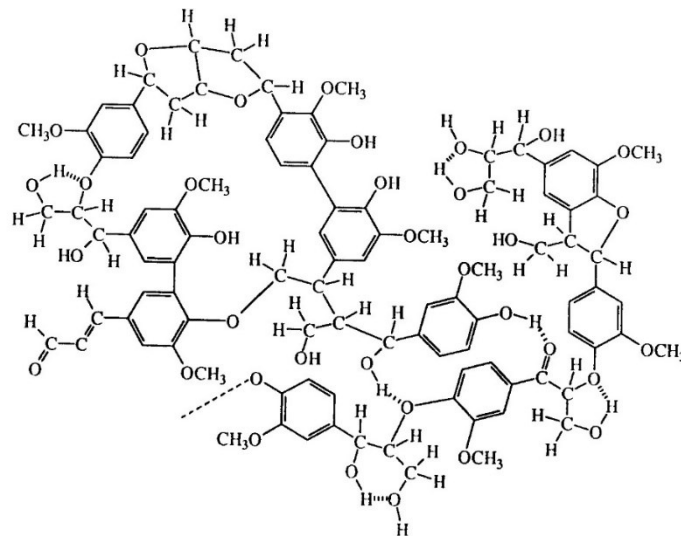
O interior da cortiça é composto por uma colmeia de pequenas células de suberina (figura 3), que podem sofrer interações π - π com os analitos, constituída por monômeros em uma rede de poliéster alifático ligado a uma matriz fenólica. A lignina (figura 4) é formada majoritariamente por anéis aromáticos, grupos éter, cetonas e aldeídos que também permitem interações do tipo π - π entre a fase sorvente, analitos apolares. Já as ligações de hidrogênio contidos principalmente nos grupos hidroxilas tem atração para compostos mais polares. Em razão dos diferentes tipos de interações que a cortiça promove, é um material bastante versátil (CARASEK *et al.*, 2019; OLIVELLÁ *et al.*, 2015). Essa composição heterogênea com a presença de grupos -CO, -OH e -CH em sua estrutura é confirmada por espectros de infravermelho (FTIR) e ressonância magnética nuclear (RMN) (NETO *et al.*, 1995).

Figura 8 - Fórmula estrutural da suberina presente na cortiça.



Fonte: adaptado de Neto *et al.*, 1995

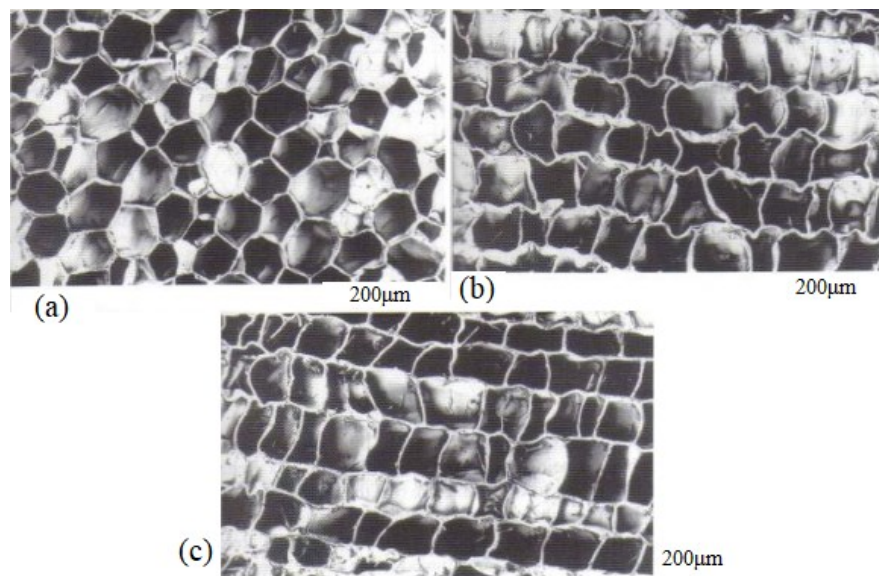
Figura 9 -Fórmula estrutural da lignina presente na cortiça.



Fonte: adaptado de Neto *et al.*, 1995

Cada centímetro cúbico de cortiça contém, em média, 40 milhões de células, existindo numa rolha de cortiça cerca de 800 milhões de células (MAFRA *et al.*, 2018; VIEIRA *et al.*, 2020). Além da composição heterogênea, possui partículas com tamanho médio de 125 a 250 μm , com uma estrutura em formato de favo de mel (BARBOSA *et al.*, 2017), tornando-a bastante porosa (Figura 10).

Figura 10 - Estrutura celular da cortiça (a) secção tangencial, (b) secção radial e (c) secção transversal.



Fonte: Pereira, 2007

A cortiça é comumente encontrada em rolhas de vinho para a vedação, mas está disponível em outros formatos como pó e comercialmente encontrada em formato de folha para isolamento térmico e acústico, bem como para a fabricação de superfícies para afixar informações (SILVA *et al.*, 2005). A alta temperatura na fabricação degrada (termo quimicamente) a parede celular da cortiça e gera um adesivo natural para formar os quadros de cortiça, com a suberina como principal agente de ligação.

A composição química de um sólido extrator tem influência nas interações com o analito, a cortiça apresenta uma hidrofobicidade e vários anéis aromáticos na sua composição química devido a sua estrutura celular majoritariamente de lignina e suberina, sendo estas as principais fontes de sorção para compostos orgânicos permitindo maior interação física com os analitos (HINZ, 2021).

Neste trabalho, o pó de cortiça foi produzido em laboratório, utilizando rolhas de vinho recicladas, e foi utilizado como fase extratora inserido na ponteira de DPX, Mallek *et al.* (2018) cita que fármacos foram 100% removidos por sorção com a cortiça.

3 OBJETIVOS

3.1. Objetivos gerais

Desenvolver uma metodologia para determinação e quantificação de sulfonamidas em amostras de água utilizando a Pa-DPX e cortiça como fase extratora.

3.2. Objetivos específicos

1. Otimizar os principais parâmetros que afetam a eficiência da extração das sulfonamidas escolhidas utilizando a técnica DPX, sendo eles o tipo e quantidade de solvente de dessorção, quantidade de fase extratora, número de ciclos de extração e dessorção, adição de sal a amostra e ajuste de pH.

2. Construir a curva de calibração (para obtenção de parâmetros: limite de detecção (LOD) e quantificação (LOQ) e coeficientes de determinação (R^2);

3. Avaliar a precisão e exatidão do método por meio de estudos de precisão intradia e interdia e recuperação relativa, respectivamente.

4. Aplicar o método desenvolvido a amostras reais

5. Comparar as principais características do método com outros já encontrados na literatura.

4 METODOLOGIA

4.1 Instrumentação

Para a etapa de extração foi utilizado o aparato de Huelsmann *et al.*, (2020) de Pa-DPX, atualizado para um modelo mais ergométrico, onde o aparato de metal foi trocado por um de plástico. A este aparato foram adicionadas as ponteiras adquiridas da DPX Technologies (Columbia, EUA) preenchidas com cortiça em pó. Para análise dos dados e obtenção das superfícies de respostas foi utilizado o Statistica®.

Para as análises foi utilizado um cromatógrafo líquido modelo LC 20AT (Shimadzu, Kyoto, Japão) equipado com um detector de arranjo de diodos (DAD) modelo SPD-M20A e injeção manual modelo Rheodyne 7725i (Rohnert Park, CA, EUA), com loop de 20 μ L. A coluna utilizada foi uma de fase reversa C18, com partículas de 5 μ m, diâmetro de 4,6 mm e comprimento de 250 mm (Agilent Technologies). Para detecção e quantificação dos analitos foi utilizado o comprimento de onda de 270 nm.

Foi utilizada a eluição por gradiente (adaptado de VIEIRA, 2015) com vazão inicial de 1,0 mL min⁻¹, com água ultrapura acidificada em 80% (solvente A - 0,1% v/v com ácido fórmico) e metanol acidificado em 20% (solvente B - 0,1% v/v com ácido fórmico) e se manteve por 3 minutos nessas condições. De 3 até 5 minutos foi mantida a proporção de 50:50 do solvente A e B. Dos 5 minutos até 10 a eluição ficou em 70:30 de solvente B e A. Ao final da corrida, dos 10 até 20 minutos, a proporção voltou ao valor de início (80:20 de solvente A e B), como mostra a tabela 5.

Tabela 5 - Eluição por gradiente indicando a proporção e o tempo (minutos) na análise de sulfonamidas no HPLC-DAD.

Tempo (min)	A (água ultrapura acidificada)	B (metanol acidificado)
0	80	20
0-3	80	20
3-5	50	50
5-7	30	70
7-10	30	70
10-12	80	20
12-20	80	20

Fonte: adaptado de VIEIRA, 2015.

4.2 Reagentes

Neste trabalho foram usados padrões sólidos de alto grau de pureza de sulfadiazina (SDZ), sulfatiazol (STZ), sulfamerazina (SMR), sulfametoxazol (SMTX) e sulfametoxipiridazina (SMP) que foram adquiridos da Sigma Aldrich.

Soluções estoques individuais foram preparados a partir dos padrões sólidos com concentrações de 1 g L^{-1} , o solvente utilizado para diluição foi metanol. Após o preparo individual foi feita uma mistura das cinco sulfonamidas com uma concentração de 50 mg L^{-1} . Para as demais etapas do trabalho foram feitas as diluições necessárias para a curva de calibração, otimização e trabalho final.

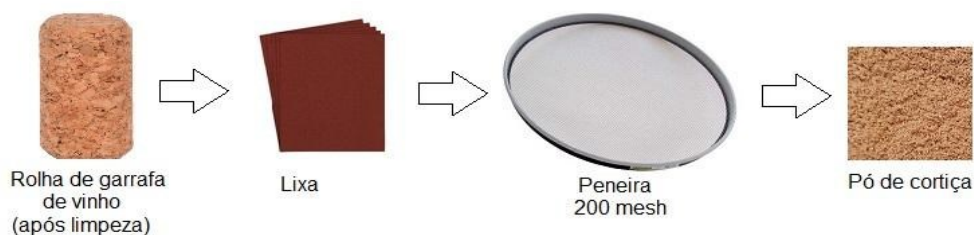
Também foram usados metanol e acetonitrila grau HPLC (Sigma Aldrich, USA) e água ultrapura ($18,2 \text{ M}\Omega \text{ cm}$) que foi obtida com um sistema de purificação Mega Purity (Billerica, MA, USA). Para acidificar as soluções de fase móvel foi usado ácido fórmico grau HPLC (Sigma Aldrich, USA). Também foram usados ácido clorídrico e hidróxido de sódio para ajuste de pH e cloreto de sódio (NaCl - Sigma Aldrich, USA) para avaliação do efeito *salting-out*.

Todos os volumes que foram utilizados de solventes, sorventes e amostra foram pipetados com micropipetas calibradas previamente, garantindo assim o volume exato utilizado.

4.3 Preparo da cortiça em pó

Para o preparo do pó de cortiça da fase extratora, foi utilizado o procedimento descrito por Morés (2016). Foram utilizadas rolhas descartáveis obtidas em estabelecimentos comerciais de Florianópolis-SC. As rolhas foram imersas em um béquer com água ultrapura por 2 horas e mantidas em banho ultrassônico, após este tempo foi observada a coloração da água, caso a água estivesse turva (análise visual), o procedimento precisa ser repetido, até que a água não apresentasse mais coloração amarelada ou rosada. Em seguida, as rolhas foram deixadas para secar em uma estufa a $110 \text{ }^\circ\text{C}$ por 12 horas. Após este procedimento, foram utilizadas folhas de lixa de madeira para raspagem da rolha e o pó foi peneirado em uma peneira de granulometria de 200 mesh, deixando-as com um tamanho padrão de pó, conforme o esquema da figura 5.

Figura 11 - Esquema de preparo do pó de cortiça após a rolha da garrafa de vinho ter sido limpa.



Fonte: autoria própria (2022).

4.4 Preparo das ponteiras

Cada ponteira de DPX de 5 mL foi previamente preparada com 26 mg de cortiça e um condicionamento para ativação dos sítios sorventes de cada nova ponteira é realizado com dois solventes. O condicionamento consiste em 5 ciclos de 300 μ L de uma mistura de iguais proporções de volume de metanol (MeOH) e acetonitrila (ACN), sendo descartada após cada aspiração. Em seguida foram feitos mais 5 ciclos de 300 μ L água ultrapura, sendo também descartado cada aspiração. Após este procedimento, as ponteiras estavam aptas para o uso.

4.5 Limpeza das ponteiras

Após a extração dos analitos, para que as ponteiras pudessem ser reutilizadas, foi realizado um teste de limpeza. O procedimento para limpeza das ponteiras usadas consistiu em aspirar com a ponteira (usada) 300 μ L de água ultrapura descartando em um frasco o líquido aspirado e logo após, injetar diretamente no HPLC. O processo foi repetido 7 vezes, até que não apresentasse mais resposta cromatográfica do analito. Todas as ponteiras foram reutilizadas 4 vezes, com a devida limpeza feita, sem que ocorresse interferência no resultado.

4.6 Amostras de água

O método foi aplicado para controle ambiental de amostras de água superficial de rios. Duas amostras foram coletadas em frascos esterilizados, fechados e mantidas refrigeradas, até que os experimentos fossem realizados. Uma amostra foi a do Rio Papaquara (-27.444056, -48.457835), Canasvieiras, Florianópolis-SC e a outra do Rio Araújo (-27.600276, -48.605271), Campinas, São José - SC.

4.7 Otimizações de dessorção e extração

Para otimização de alguns parâmetros relativo à extração foram utilizados planejamentos multivariados. Nos planejamentos, a resposta utilizada foi a média geométrica da área dos picos cromatográficos dos analitos.

A primeira etapa foi a avaliação do melhor solvente de dessorção, utilizando o modelo *simplex lattice* de superfície triangular para planejamento (tabela 6), onde foi usado MeOH, ACN e água UP com pH 10 (garantindo o analito em sua forma aniônica) em diferentes proporções, encontrando a melhor mistura. Para o ajuste de pH da água UP foi utilizado ácido clorídrico e hidróxido de sódio com concentração de 0,1 mol L⁻¹ até o pH desejado, sendo monitorado com um phmetro de bancada.

Tabela 6 - Planejamento *simplex lattice* para definir o solvente de dessorção. Parâmetros da extração: 5 ciclos de 1,5 mL de água UP fortificada com 300 µg L⁻¹ da mistura de sulfonamidas, amostra ajustada em pH 5, 10% de NaCl. Para dessorção foram utilizados 5 ciclos de 250 µL de solvente. Massa de cortiça na ponteira: 20 mg.

	H2O UP, pH 10	ACN	MeOH
1	0,33	0,33	0,33
2	0	0,50	0,50
3	1	0	0
4	0,50	0	0,50
5	0,33	0,33	0,33
6	0	1	0
7	0	0	1
8	0,50	0,50	0
9	0,33	0,33	0,33

Fonte: autoria própria (2022).

A próxima etapa foi a análise de ciclos (1 a 9), juntamente com o volume (200-300 µL) de solvente de dessorção necessário, com estas duas variáveis a serem analisadas simultaneamente, o planejamento escolhido foi o *Doehlert* (tabela 6).

Tabela 7 - Planejamento *Doehlert* relacionando ciclos com volume do solvente de dessorção. Parâmetros da extração: 5 ciclos de 1,5 mL de água UP fortificada com 300 µg L⁻¹ da mistura de sulfonamidas, amostra ajustada em pH 5, 10% de NaCl. Massa de cortiça na ponteira: 20 mg.

Experimento	Ciclos dessorção	Volume (µL)
1	1	250
2	7	300
3	5	250
4	3	300
5	7	200
6	9	250
7	5	250
8	3	200
9	5	250

Fonte: autoria própria (2022).

Um novo *Doehlert* foi planejado (tabela 8), relacionando pH (2-5) e porcentagem de sal (0-20%) para determinar os dados mais adequados para uma melhor extração.

Tabela 8 - Planejamento *Doehlert* relacionando pH (2-5) e porcentagem de sal (0-20%). Parâmetros fixados para extração: 3 ciclos de 2 mL de água UP fortificada com uma mistura de sulfonamidas de 300 µg L⁻¹. Para a dessorção: 7 ciclos de 200 µL de uma mistura de ACN e água UP ajustado em pH 10 (proporção de 1:1, v/v). Massa de cortiça: 20 mg.

Experimento	pH	% sal
1	2	5
2	3,5	0
3	3,5	20
4	2	15
5	3,5	10
6	5	5
7	5	15
8	3,5	10
9	3,5	10

Fonte: autoria própria (2022).

E um último *Doehlert* relacionando ciclos de extração com massa de cortiça, com as informações da tabela 9, para que pudesse ser encontrada a quantidade de massa de cortiça (18-26mg) com melhor resposta ao planejamento e a melhor quantidade de ciclos de extração (3-5).

Tabela 9 - Relação dos parâmetros analisados no *Doehlert* de ciclos de extração e massa de cortiça. Parâmetros fixados para extração: 3 ciclos de 2 mL de água UP fortificada com uma mistura de sulfonamidas em $300 \mu\text{g L}^{-1}$, ajustado em pH 5 com 20% de NaCl. Para a dessorção: 7 ciclos de $200 \mu\text{L}$ de uma mistura de ACN e água UP ajustado em pH 10 (proporção de 1:1, v/v).

Experimento	Ciclos	Massa cortiça (mg)
1	3	18
2	1	24
3	3	22
4	5	20
5	3	26
6	1	20
7	3	22
8	3	22
9	5	24

Fonte: autoria própria (2022).

4.8 Parâmetros analíticos de mérito

Com o método otimizado, foram construídas curvas de calibração com adição de padrão externo, para obtenção de parâmetros analíticos de mérito como coeficiente de determinação (R^2), limite de detecção (LOD) e limite de quantificação (LOQ).

Em seguida, ensaios de precisão foram realizados, intradia e interdia, sendo avaliados com o desvio padrão relativo (RSD). As amostras usadas para ambos os ensaios citados foram fortificadas com a mistura de sulfonamidas nas concentrações de 25, 150 e $300 \mu\text{g L}^{-1}$. O ensaio intradia foi realizado em triplicata, para cada uma das três concentrações, no mesmo dia ($n = 3$). Já o ensaio interdia as triplicatas de cada concentração foram repetidas em três dias diferentes ($n = 9$).

Também foi determinado o fator de enriquecimento (FE) utilizando os dados de intensidade (mAu) na injeção direta (C_{id}) e após o preparo de amostras (C_{pa}), ambas as amostras estavam fortificadas em uma concentração de $300 \mu\text{g L}^{-1}$ da mistura de sulfonamidas, obtidos com o procedimento de preparo de amostra proposto. Com isso, FE foi calculado como a razão das áreas cromatográficas obtidas em C_{id} e C_{pa} . Já a exatidão foi avaliada com ensaios de recuperação relativa em amostras fortificadas do Rio Papaquara, em três níveis de concentração da faixa linear (25, 150, $300 \mu\text{g L}^{-1}$). Por fim, o método foi aplicado a outras amostras reais.

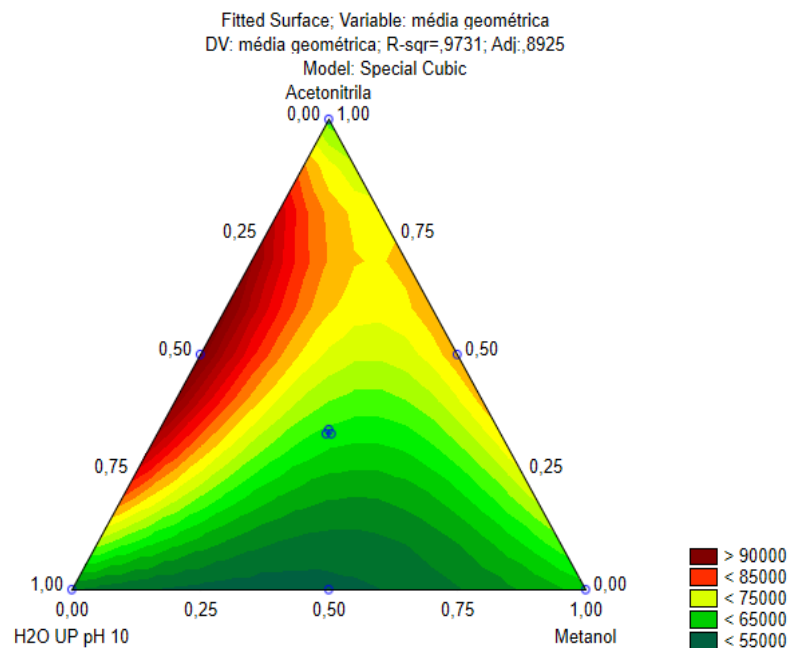
5 RESULTADOS

5.1 Otimizações do preparo de amostra

5.1.1 Solvente de dessorção

Os resultados do *simplex lattice* são apresentados na Figura 6 como uma superfície de resposta que foi produzida utilizando a média geométrica das áreas cromatográficas dos analitos para cada experimento. A superfície foi construída com um modelo cúbico especial com R^2 de 0,9731, mostrando a boa correlação entre os dados experimentais e o modelo matemático utilizado.

Figura 12 - Superfície de respostas obtido para a escolha do melhor solvente de dessorção (MeOH, H₂O UP pH 10 e ACN). Amostra: água UP fortificada em 300 µg L⁻¹ com a mistura de sulfonamidas, pH ajustado em 5, 10% de sal (m/v), 5 ciclos de extração de 1500 µL. Para a dessorção foram utilizados 5 ciclos de 250 µL de cada solvente e 20 mg de pó de cortiça como fase extratora.



Fonte: autoria própria (2022).

Para uma dessorção mais efetiva é importante um estudo das características de interação do solvente com os analitos na intenção de romper essas interações (CARASEK, MORÉS e HUESLMANN, 2022) permitindo a remoção dos analitos da

fase extratora. Assim, se faz necessária uma triagem para a melhor escolha individual ou uma mistura de solventes (CARASEK, MORÉS e HUESLMANN, 2022).

A baixa volatilidade, evitando perda da fase orgânica durante o preparo da amostra; alto grau de pureza para não apresentar contaminantes que prejudiquem a análise; compatibilidade com o analito e com a instrumentação analítica empregada, são pontos que devem ser levados em consideração na escolha dos solventes de dessorção (OLIVEIRA *et al.*, 2013). Além disso, procura-se sempre a utilização de solventes de baixa toxicidade.

De acordo com a Figura 6, uma mistura (1:1, v/v) de ACN e água ultrapura (pH 10) foi o melhor resultado na otimização, o ajuste de pH da água, do solvente de dessorção, garante a ionização dos analitos em sua forma aniônica. Na literatura é possível encontrar dados do potencial zeta da cortiça (CHUBAR, CARVALHO e CORREIA, 2003), visto que em toda a faixa de pH entre 4 e 10, a cortiça apresenta em sua superfície cargas negativas, por isto, ao deixar os analitos em sua forma aniônica, é favorecida a dessorção (VIEIRA, 2015).

A acetonitrila, devido suas propriedades, é amplamente empregada como fase móvel em análises de HPLC (COX, NATARAJAN e WAGHORNE, 1979). Por apresentar o comportamento polar como solvente (ACN), ela se dissolve em água em toda faixa de proporções, neste trabalho em iguais proporções (1:1), sendo usada para a dessorção de sulfonamidas, solvatando-as (MARTÍNEZ e GÓMEZ, 2002).

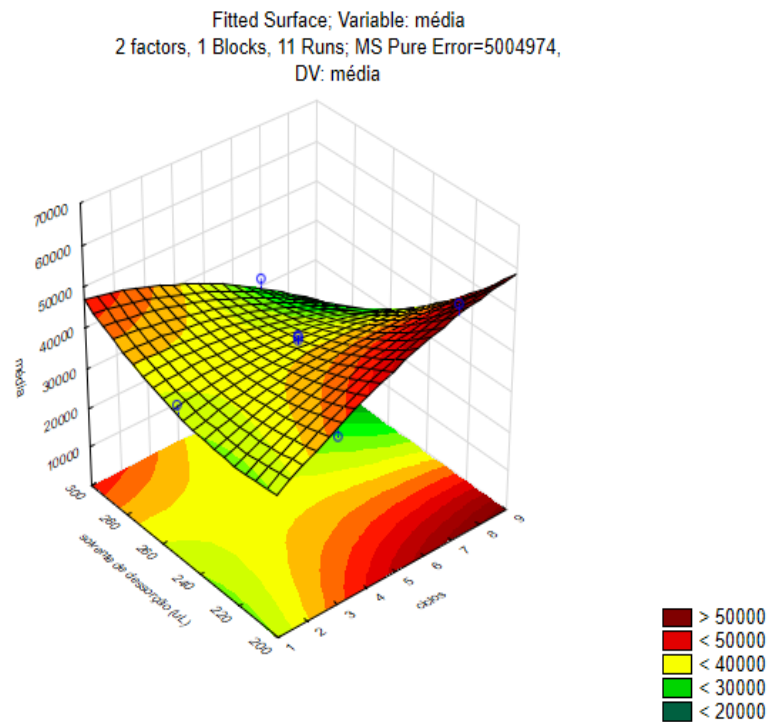
5.1.2 Otimização dos ciclos de dessorção e volume do solvente

A etapa de dessorção tem como finalidade remover os analitos da fase extratora (CARASEK, MORÉS e HUESLMANN, 2022) e pode-se utilizar um ou mais ciclos de dessorção, dependendo da necessidade. O volume do solvente de dessorção não deve ultrapassar a capacidade da ponteira, garantindo que a mistura dinâmica entre fase extratora e solvente ocorram de forma efetiva com a aspiração da amostra e ar.

A superfície de resposta obtida para os experimentos de otimização de ciclos e volume de solvente na parte de dessorção é apresentada na Figura 7, obtida utilizando

um modelo linear quadrático com coeficiente de determinação de 0,8839, mostrando boa correlação entre os dados experimentais e o modelo proposto.

Figura 13 - Superfície de resposta do planejamento *Doehlert* de ciclos de dessorção e volume do solvente de dessorção. Condições fixadas para extração: 5 ciclos de 1,5 mL de amostra de H2O UP fortificada em 300 µg L⁻¹, com pH ajustado em 5 e 10% de NaCl, 20mg de cortiça na ponteira.



Como mostrado na figura, uma boa resposta é obtida usando 200 µL de solvente, um bom resultado, economizando assim, solvente e minimizando o descarte (MORÉS *et al.*, 2018). O menor volume do solvente de dessorção está ligado a uma maior pré-concentração dos analitos, evitando diluição do extrato (MAZURKIEVICZ, 2018 e da SILVA, 2016).

O uso de mais ciclos na dessorção significa uma maior quantidade de analito, deixando o extrato mais concentrado, observado com o aumento da resposta analítica (figura 7) conforme foi aumentado a quantidade de ciclos. Porém, a dessorção dos analitos no extrato acontece até que o equilíbrio seja atingido (HUELSMANN, WILL e CARASEK, 2021), sendo assim, mais de 7 ciclos não tem diferença significativa para ser adotado como melhor condição.

Portanto, 7 ciclos de dessorção utilizando a mesma alíquota de 200 μL do solvente de dessorção foram selecionados como a melhor condição e utilizados nas próximas etapas de otimização.

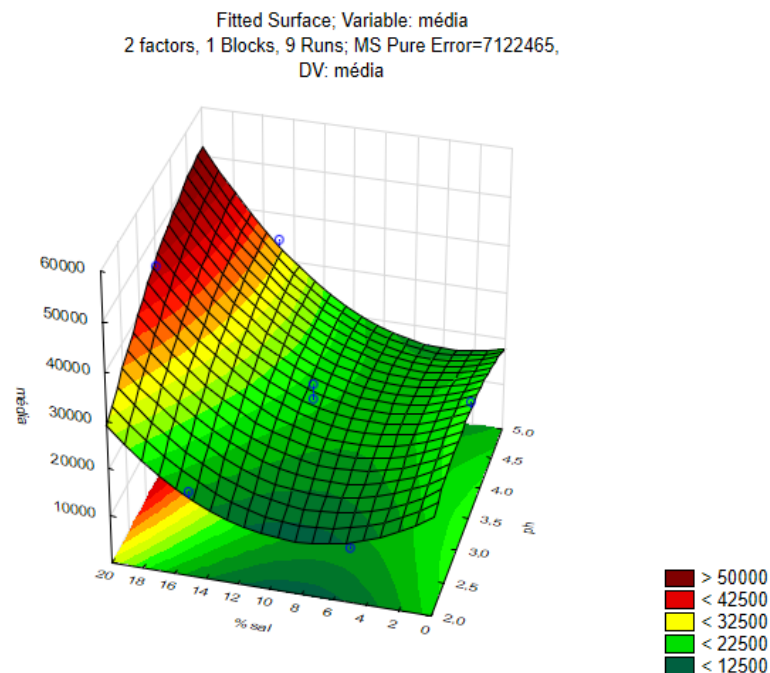
5.1.3 Otimização do pH e da porcentagem de sal da amostra

As sulfonamidas são analitos altamente polares com características anfóteras, o pH da amostra deve ser otimizado para que a interação com a fase extratora seja adequada. Por possuírem um grupamento amida e outro amina, esses compostos têm dois valores de pKa.

O controle da porcentagem de sal na amostra é outro fator de importância na extração, o efeito *salting-out* que pode ocorrer afeta diretamente a eficiência, a adição de sal reduz a solubilidade dos analitos na matriz. Segundo Bezerra (2016) o efeito faz com que as cargas provenientes da dissociação desse sal passem a interagir com as cargas da água da amostra, deixando as moléculas dos analitos livres para que estes possam ser extraídos pelo solvente e interajam com a fase extratora.

A adição de sal à amostra e o ajuste de pH foram otimizados utilizando um planejamento *Doehlert* e os resultados são apresentados como uma superfície de resposta linear quadrática na Figura 8, obtido com R^2 de 0,7408.

Figura 14 - Superfície de resposta do planejamento *Doehlert* de porcentagem de sal e pH da amostra. Condições de extração: 3 ciclos de 2 mL de amostra fortificada em 300 $\mu\text{g L}^{-1}$, com 7 ciclos de dessorção de 200 μL de uma mistura de H_2O UP e ACN (1:1) com pH 10. Fase extratora: 20 mg de cortiça.



Fonte: autoria própria (2022).

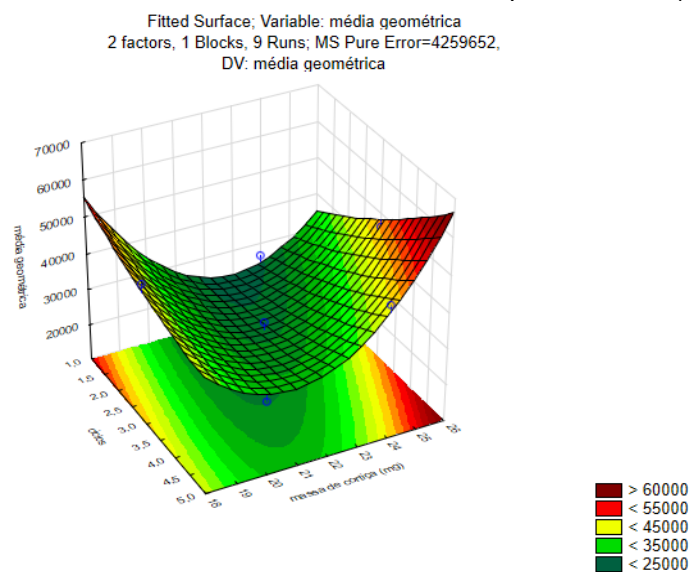
Como observado, os melhores resultados foram a porcentagem de 20% (m/v) de sal e valores de pH superiores a 3,5 com o melhor valor em pH 5. Yang *et al.*, (2020) cita que quando as sulfonamidas estão em sua forma molecular (pH entre 4 e 5), mais grupos formam ligações de hidrogênio com a hidroxila do adsorvente, facilitando a extração (HUELSMANN *et al.*, 2020).

As sulfonamidas apresentam em pH ácido sua forma catiônica, tornando-as mais solúveis na fase aquosa, dificultando a interação com a fase extratora e consequentemente minimizando a sua extração (Liu *et al.*, 2010). E quando o pH da amostra é maior que o pKa dos compostos, entre 6-8, as moléculas estão em sua forma aniônica, que também dificultam sua extração (LUO *et al.*, 2011). Por esta razão o ajuste de pH em 5 se torna a melhor condição, com as sulfonamidas em sua forma molecular.

5.1.4 Otimização da massa de cortiça e ciclos de extração

Para uma boa extração é importante encontrar o equilíbrio de adsorção entre o analito e a fase sólida (TOMASIN *et al.*, 2021). Desta maneira, um planejamento *Doehlert* foi realizado, relacionando a quantidade de cortiça (fase extratora) e os ciclos de extração, uma superfície de resposta linear quadrática (figura 9) foi construída para avaliar os resultados, com R^2 de 0,7891.

Figura 15 - Superfície de resposta *Doehlert* da massa de cortiça e ciclos de extração. Condições fixadas de extração: 2 mL de amostra fortificada em $300 \mu\text{g L}^{-1}$, pH ajustado em 5 e 20% NaCl (m/v). Dessorção: 7 ciclos de 200 μL de uma mistura de H_2O UP com pH 10 e ACN (1:1).



Fonte: autoria própria (2022).

Os valores máximos de ambas as variáveis, 26 mg de cortiça e 5 ciclos de extração, resultaram em melhores condições. Em cada ciclo de extração, novas alíquotas são usadas a cada aspiração, possibilitando uma maior concentração do analito na fase extratora (CORAZZA *et al.*, 2019), por esta razão mais ciclos são encontrados como melhor resposta. Já a massa de cortiça em maior quantidade é melhor, considerando que mais analitos podem ficar retidos para a extração com o aumento da área de contato analito-fase extratora (SILVA *et al.*, 2016).

Na figura apresentada é possível ver um crescimento na massa de cortiça, indicando que mais massa poderia ser ainda mais efetivo, porém, por termos uma ponteira pequena, um aumento na massa da cortiça dificultaria a passagem dos

solventes (dessorção e extração) diminuindo a eficiência, já que a mistura entre fase extratora-solvente não seria tão dinâmica quanto o esperado.

5.2 Obtenção dos parâmetros analíticos de mérito

Após a otimização do preparo de amostras é feita a validação baseada em alguns parâmetros de mérito, sendo uma etapa muito importante para evidenciar a aplicabilidade do método analítico testado e sua confiabilidade. Com a construção da curva de calibração do método otimizado, de adição de padrão externo, com amostras de água UP fortificadas (25, 150 e 300 $\mu\text{g L}^{-1}$), obteve-se a precisão (interdia e intradia) e exatidão do método, linearidade, limite de detecção e quantificação e a recuperação relativa. Para o limite de quantificação (LOQ), o primeiro ponto da curva analítica pode ser utilizado, já o limite de detecção (LOD), 3,33 vezes inferior ao de quantificação.

As curvas de calibração foram construídas na faixa linear de 25, 50, 100, 150, 200, 250 e 300 $\mu\text{g L}^{-1}$ para todos os analitos (mistura da amostra), sendo eles extraídos e dessorvidos segundo as melhores condições de otimização, sendo a injeção realizada no HPLC para separação e detecção no DAD. Com a curva obtida, foram analisados os dados e avaliado se o método proposto neste trabalho é válido.

Foram calculados os limites de detecção (LOD em $\mu\text{g L}^{-1}$) que é a concentração mínima que o método utilizado detecta, caso uma amostra chegue contaminada com valores acima do LOD, o analito é detectado. E o limite de quantificação (LOQ em $\mu\text{g L}^{-1}$) é expresso como a menor quantidade de analito de uma amostra, que se pode determinar com exatidão a sua quantidade (RAMBLA-ALEGRE, ESTEVE-ROMERO e CARDA-BROCH, 2012).

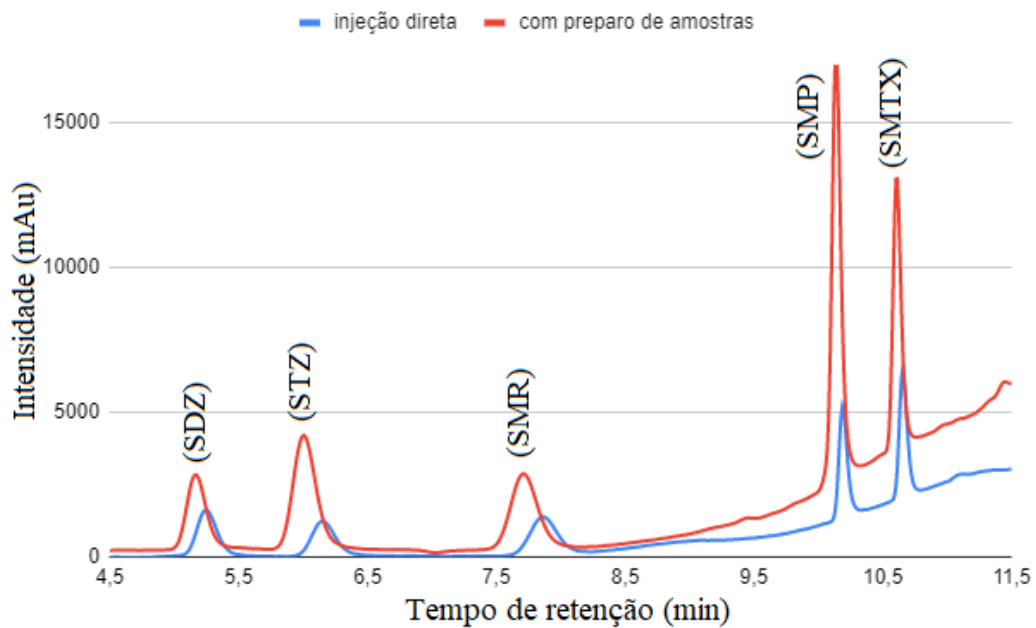
O fator de enriquecimento (FE) é utilizado para calcular a eficiência dos métodos de pré-concentração usando valores de injeção direta no equipamento e após o preparo de amostra (figura x) sendo possível observar um aumento de quase seis vezes (tabela 12). Na mesma tabela aparecem os valores de R^2 e a curva analítica para cada um dos analitos.

Tabela 10 - Coeficiente de correlação, limites de detecção e quantificação, fator de enriquecimento e curva de calibração obtidos para o método proposto para determinar sulfonamidas em amostra aquosa. Concentrações da curva de calibração de 25, 50, 100, 150, 200, 250 e 300 $\mu\text{g L}^{-1}$ repetidas em triplicatas.

Analito	LOD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LOQ ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Curva de calibração	r^2	FE
Sulfadiazina	7	25	$y = 144x - 1366$	0,9549	3,5
Sulfatiazol	7	25	$y = 194x + 1248$	0,9855	4,5
Sulfamerazina	7	25	$y = 200x - 1148$	0,9808	4,0
Sulfametóxipiridazina	7	25	$y = 297x + 1097$	0,9914	5,5
Sulfametoxazol	7	25	$y = 225x + 1023$	0,9738	4,0

Fonte: autoria própria (2022).

Figura 16 - Cromatogramas relacionando os picos de uma amostra (Rio Papaquara) fortificada com a mistura de sulfonamidas com concentração de 300 $\mu\text{g L}^{-1}$ injetadas diretamente no equipamento (linhas azuis) e após o preparo de amostras com a metodologia deste trabalho (linhas vermelhas). Comprimento de onda de 270 nm. Tempo de retenção das sulfonamidas: 5,31; 5,90; 7,72; 10,25 e 10,61 minutos.



Fonte: autoria própria (2022).

A reprodutibilidade do método foi determinada pelas precisões intradia e interdia que são apresentadas na Tabela 13. Os desvios padrões relativos (RSD's) foram calculados com a amostra de H_2O UP fortificada com a mistura de sulfonamidas em três níveis de concentração diferentes (25, 150 e 300 $\mu\text{g L}^{-1}$).

Tabela 11 - Dados da precisão intradia realizados em triplicata ao longo do mesmo dia e interdia, realizado em triplicata em três dias seguidos, relacionados com as concentrações que cada amostra foi fortificada.

Analito	Concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Precisão	
		Intradia (n=3)	Interdia (n=9)
Sulfadiazina	25	1,6	10,9
	150	5,7	16,5
	300	8,5	13,3
Sulfatiazol	25	2,2	5,8
	150	13,1	9,1
	300	12,3	9,9
Sulfamerazina	25	1,1	17,7
	150	4,6	7,5
	300	12,3	12,2
Sulfametóxi piridazina	25	13,9	8,5
	150	2,6	11,8
	300	6,5	15,2
Sulfametoxazol	25	4,6	19,6
	150	5,5	17,1
	300	12,0	20,0

Fonte: autoria própria (2022).

Para os parâmetros de precisão (RSD) e ensaios de recuperação (REC) foram realizadas a aplicação do método na amostra de água do Rio Araújo, onde não foi detectada a presença dos analitos no branco da amostra, podendo estar em concentrações abaixo dos limites de detecção obtidos pelo método. Os dados obtidos encontram-se na Tabela 14, sendo possível observar os resultados com as concentrações que foram utilizadas para a análise. Com os valores de RSD abaixo de 20, é possível determinar um bom resultado no experimento, a literatura traz que em métodos de análise com níveis em $\mu\text{g L}^{-1}$, são aceitos RSD de até 20%, definido como uma boa precisão (SANCO, 2013 e RIBANI, *et al.*, 2004).

Para a determinação da exatidão, realizou-se em triplicata ensaios de recuperação relativa dos analitos. Com base no trabalho de Rambla-Alegre, Esteve-Romero e Carda-Broch (2012) as recuperações devem ser feitas com três concentrações (neste trabalho 25, 150 e 300 $\mu\text{g L}^{-1}$). Os valores obtidos ficaram na faixa de 80,9 – 117,1 % e são considerados compatíveis com estudos (SANCO, 2013)

Tabela 12 - Dados da recuperação relativa e RSD da amostra.

Analito	Concentração fortificada ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Recuperação (%)	RSD
Sulfadiazina	25	115,0	3,5
	150	111,6	8,9
	300	88,6	16,7
Sulfatiazol	25	80,9	6,4
	150	81,5	4,8
	300	115,4	3,1
Sulfamerazina	25	117,1	2,0
	150	89,9	10,3
	300	96,3	11,4
Sulfametóxi piridazina	25	90,6	12,3
	150	100,4	6,4
	300	112,0	1,6
Sulfametoxazol	25	111,5	9,0
	150	107,5	9,9
	300	105,4	19,6

Fonte: autoria própria (2022).

5.3 Determinação nas amostras

O método desenvolvido foi aplicado para determinação de sulfonamidas amostras diferentes de rios. Ambas as amostras não apresentaram picos cromatográficos nas regiões dos analitos estudados.

Nas figuras 11 e 12 são apresentados os gráficos de uma amostra fortificada a $300 \mu\text{g L}^{-1}$ juntamente com uma amostra retirada diretamente do Rio Papaquara e Rio Araújo respectivamente.

Figura 17 - Cromatogramas com amostra Papaquara e amostra fortificada em $300 \mu\text{g L}^{-1}$, ambas no comprimento de 270 nm .
Fonte: autoria própria (2022)

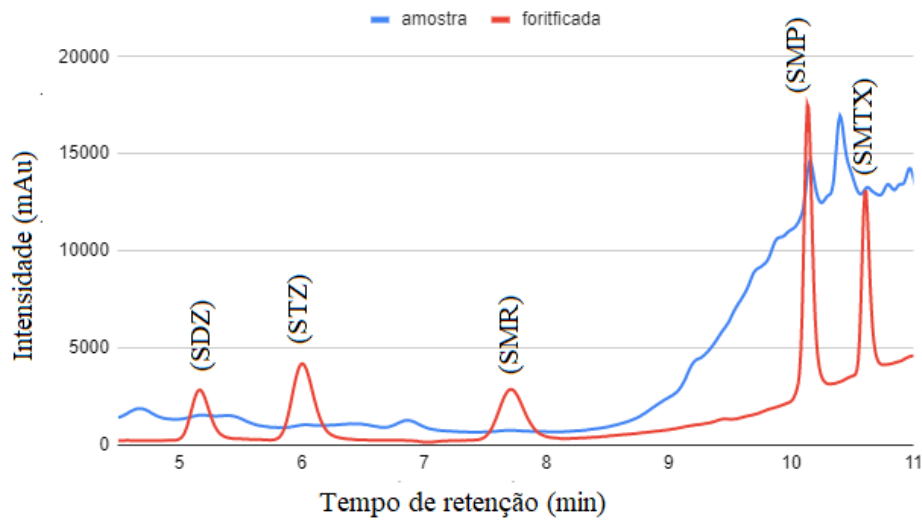
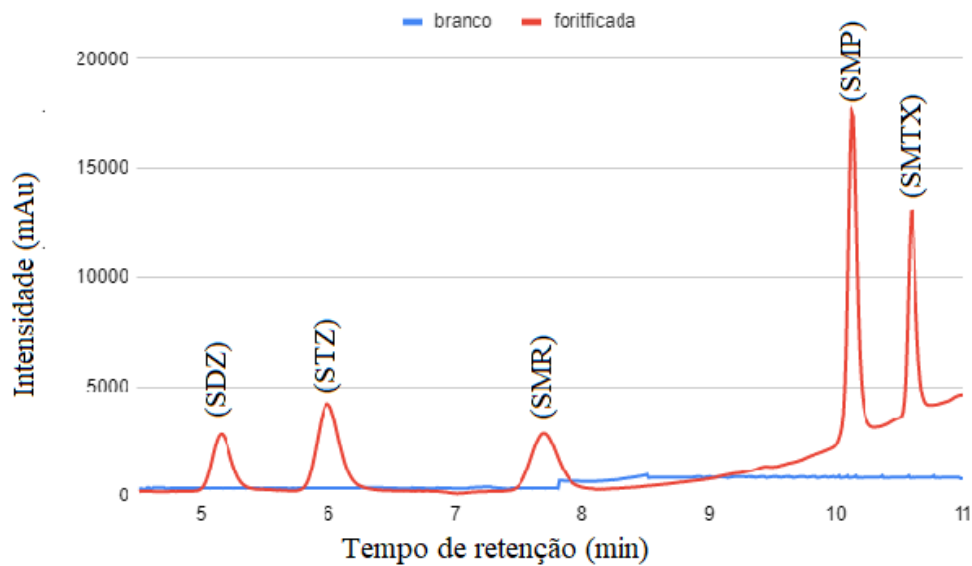


Figura 18 - Cromatogramas com amostra do Rio Araújo e amostra fortificada em $300 \mu\text{g L}^{-1}$, ambas no comprimento de 270 nm .
Fonte: autoria própria (2022).



5.4 Comparação com outros trabalhos

Por ser uma metodologia de preparo de amostras relativamente nova, ainda não há trabalhos para uma mesma comparação. Algumas características do presente método foram comparadas com outras metodologias da literatura (tabela 15) e os dados analisados foram o preparo de amostras (metodologia), tempo de preparo

(minutos), volume da amostra utilizada (mL) e faixa linear de trabalho, LOQ ($\mu\text{g L}^{-1}$), LOD ($\mu\text{g L}^{-1}$) e fator de pré-concentração.

Tabela 13 - Comparativo com outros trabalhos encontrados na literatura.

Preparo de amostra (técnica)	Instrumentação	Tempo de preparo (minutos)	Volume de amostra (mL)	Faixa Linear ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LOD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LOQ ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Referência
SPME	HPLC-MS/MS	50	25	10-1000	-	-	Balakrishnan, Terry e Toito (2006)
HF-LPME	HPLC-DAD	60	15	2 – 100 2 – 50	0,7	2	Carasek e Vieira (2017)
SPE	HPLC	-	10	23 – 300	22,95	25,83	Soto-Chinchilla, <i>et al.</i> (2006)
DSPE	HPLC-DAD	10	30	0,05 – 100	0,02	-	Lu <i>et al.</i> (2020)
p-Poly-(MMA-IL)-TFME	HPLC-DAD	5	3	0,5 - 500	0,14 – 0,52	0,41 – 1,57	Shahriman <i>et al.</i> (2021)
SPE	HPLC-UV	-	100	5 - 30	10	33	Shaaban e Górecki (2011)
UA-DLLME	HPLC	13	5	5 - 500	1.3–7.8	4,3 – 26,0	Wang <i>et al.</i> (2022)
MSPE	HPLC-AD	10	25	2 – 200	0,21–0,33	0,6 – 1,0	Tolmacheva <i>et al.</i> (2016)
Pa-DPX	HPLC-DAD	5	7,5	25-300	7	25	Este trabalho

Fonte: autoria própria (2022).

O tempo de preparo de amostras do método é mais rápido quando comparado a outros (tabela acima), economizando também a quantidade de amostra utilizada para a análise. Apresenta uma boa faixa linear e apesar de um LOD mais alto que os demais, ainda é possível utilizar para amostras reais.

Destaca-se pelo baixo consumo de amostra e solvente. Além disso, o presente trabalho tem como vantagem o uso da cortiça, um biossorvente que vem sendo bastante utilizado em técnicas de microextração devido as diversas características, entre elas a alta capacidade sorbiva, a biodegradabilidade (DEMIRBAS, 2008), o fácil acesso e baixo custo, tornando o presente método uma alternativa mais verde.

Também vale destacar a possibilidade de um aumento na frequência analítica do método, uma vez que é um dos métodos com menor tempo de preparo por amostra, melhorando ainda mais pela possibilidade de extrações simultâneas com a Pa-DPX e possibilidade de automação. A facilidade em realizar o preparo de forma simultânea, também diminui a possibilidade de erros manuais, já que todas elas são feitas com a mesma metodologia ao mesmo tempo.

6 CONCLUSÃO

O pó de cortiça se mostrou bastante eficiente como fase extratora para a determinação das sulfonamidas, o baixo custo das rolhas recicladas e a disponibilidade deste biossorvente torna o seu uso bastante promissor para extração de diversos analitos.

A metodologia, Pa-DPX, utilizada neste trabalho como preparo de amostras é capaz de extrair os compostos de interesse de forma seletiva, exigindo uma quantidade pequena de amostra e de solventes, tornando uma alternativa que vai ao encontro dos princípios da Química Verde. Tendo como outra vantagem a diminuição no tempo de extração, com as ponteiras simultâneas, diminuindo também o erro manual envolvido.

Nas amostras coletadas para este trabalho, não foi possível detectar nenhum sinal analítico dos analitos ou foram encontradas concentrações muito baixas que não foram detectadas no método desenvolvido.

Combinando a extração via DPX com o instrumento (HPLC-DAD), os resultados em termos de sensibilidade são excelentes em boas faixas lineares e limites de detecção ($\mu\text{g L}^{-1}$ e $\mu\text{g kg}^{-1}$). O desvio padrão relativo (RSD) demonstrou valores de acordo com a literatura o que confirma uma boa precisão do método proposto. Além disso, obteve-se boa resposta de recuperação utilizando amostras de água de rio.

7 REFERÊNCIAS

- ANDRADE-EIROA, *et al.* Solid-phase extraction of organic compounds: A critical review (part I). *Trends in Analytical Chemistry*, v. 80, p. 641-654, 2016. ISSN: 0165-9936.
- ASSOCIAÇÃO GRUPO DE ANALISTAS DE RESÍDUOS DE PESTICIDAS (GARP). Manual de Resíduos de Pesticidas em Alimentos (apostila), 1999.
- BHAL, S. K. LogP - Making Sense of the Value. Application Note. Advanced Chemistry Development, Inc. Toronto, ON, Canada.
- BALAKRISHNAN, V. K.; TERRY, K. A.; TOITO, J. Determination of sulfonamide antibiotics in wastewater: A comparison of solid phase microextraction and solid phase extraction methods. *Journal of Chromatography A*, v. 1131, Issues 1–2, p. 1-10, 2006. ISSN 0021-9673.
- BARAN, W. *et al.* Effects of the presence of sulfonamides in the environment and their influence on human health. *Journal of Hazardous Materials*, v. 196, p. 1-15, 2011. ISSN 0304-3894.
- BECZE, A. *et al.* A Validated HPLC Multichannel DAD Method for the Simultaneous Determination of Amoxicillin and Doxycycline in Pharmaceutical Formulations and Wastewater Samples. *Appl. Sci.* 2022, 12(19), 9789.
- BEZERRA, I. M. Estudo dos equilíbrios sólido-líquido presentes na síntese enzimática de antibióticos β -lactâmicos. Tese de doutorado - Universidade Federal da Bahia - Escola Politécnica. Bahia, p.150, 2016.
- BIALK-BIELINKA, A. *et al.* A very fast and simple method for the determination of sulfonamide residues in seawaters. *Anal. Methods*, 2011, v. 3, p. 1371-1378.
- BIRK, L., ELLER, S., DE OLIVEIRA, T. F. Expanding the use of cork as biosorbent through the determination of new psychoactive substances in postmortem blood samples. *Toxicologie Analytique et Clinique*, vol. 34, Issue 3, Supplement, p. S24. 2022. ISSN 2352-0078.
- BOXALL A. B. *et al.* The sorption and transport of a sulphonamide antibiotic in soil systems. *Toxicol Lett*, v. 131, p.19–28, 2002.
- BORDIN, *et al.* Disposable pipette tips extraction: Fundamentals, applications and state of the art. *Journal of separation Science*, v. 39, issue 6, p. 1168-1172. March, 2016.
- BOYACI, E. *et al.* Sample preparation with solid phase microextraction and exhaustive extraction approaches: Comparison for challenging cases. *Analytica Chimica Acta*, v. 873, p.14-30, 2015.
- BRASIL, Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br>. Acesso em: 1 abr. 2021.
- BRYSKIER A: Antimicrobial agents: antibacterials and antifungals. Washington D.C: ASM Press; 2005.
- CAMPOS, C. D. M. *et al.* Preparo de Amostras Assistido por Campo Elétrico: Fundamentos Avanços, Aplicações e Tendências. *Quim. Nova*, Vol. 38, No. 8, 1093-1106, 2015.
- CARASEK, E.; MORÉS L.; HUELSMANN, R. D. Disposable pipette extraction: A critical review of concepts, applications, and directions. *Analytica Chimica Acta*, Volume 1192, 2022. ISSN 0003-2670.
- CATELANI, T. A. Desenvolvimento de Sistemas de Screening Automatizados para Determinação de Sulfonamidas em Mel e Procedimentos Limpos para a

- quantificação de Sulfaquinoxalina em Medicamentos Veterinários. Dissertação de Mestrado - Universidade Estadual Paulista (UNESP), p. 96. 2012.
- CECON, P. R.; DA SILVA, A.R. Apostila: Introdução à Metodologia de Superfície. Universidade Federal de Viçosa - Departamento de Estatística Disciplina. 2011.
- CHUBAR, N., CARVALHO, J. R., CORREIA, M. J. N. Cork biomass as biosorbent for Cu(II), Zn(II) and Ni(II). *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, vol. 230, p. 57-65. 2003. ISSN 0927-7757.
- CORAZZA, G. *et al.* Assessment of a Fully Optimized DPX-Based Procedure for the Multiclass Determination of Pesticides in Drinking Water Using High-Performance Liquid Chromatography with Diode Array Detection. *J. Braz. Chem. Soc.* 30 (6).
- COSTENARO, H. S. Hidrólise ácida e retirada de sais da glicerina bruta proveniente da produção de biodiesel. Dissertação de mestrado - Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, p. 2009.
- DA SILVA, A. K. *et al.* Extração em fase sólida magnética (SPME): fundamentos e aplicações. *Scientia Chromatographica* 2016; 8(4):239-256 Instituto Internacional de Cromatografia. ISSN 1984-4433.
- DA SILVA, L. F. Análise Quimiométrica da Distribuição de Quimioterápicos Antimicrobianos (Fluoroquinolonas e Sulfonamidas) na Baía de Ubatuba. Dissertação de mestrado, Instituto de Química de São Carlos da Universidade de São Paulo, São Paulo. Orientador: Prof. Dr. Eduardo Bessa Azevedo. 2016.
- Delgado *et al.* Validación de una metodología analítica empleando espectrofotometría ultravioleta para el estudio de la solubilidad de algunas sulfonamidas en mezclas cosolventes. *Revista Colombiana de Química*, vol. 42, n. 3, p. 1-26. 2013. ISSN: 0120-2804.
- DIAS, A. N. Cortiça: uma nova abordagem como fase extratora para microextração em fase sólida e microextração em barra adsorptiva. Universidade Federal de Santa Catarina. Tese de doutorado, 2015.
- DIAS, A. N. *et al.* Cork as a new (green) coating for solid-phase microextraction: Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in water samples by gas chromatography–mass spectrometry. *Analytica Chimica acta*, v. 772, p. 33-39, 2013.
- DEMIRBAS, A. Heavy metal adsorption onto agro-based waste materials: A review. *Journal of Hazardous Materials*, v. 157, p. 220- 229, 2008.
- DOS SANTOS, P. N. *et al.* Otimização e Validação De Método Multirresíduo Para Determinação de Sulfonamidas Em Camarão Cultivado por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com Detecção por UV. *Quim. Nova*, Vol. 34, No. 7, 1265-1270, 2011.
- EBRAHIMPOUR, B.; YAMINI, Y.; REZAZADEH, M. A sensitive emulsification liquid phase microextraction coupled with on-line phase separation followed by HPLC for trace determination of sulfonamides in water samples. *Environ Monit Assess* (2015) 187:4162 DOI 10.1007/s10661-014-4162-2. Springer International Publishing Switzerland, 2014.
- GARCÍA-GALÁN, M.J.; DÍAZ-CRUZ, M.S.; DAMIÀ-BARCELÓ, D. Determination of 19 sulfonamides in environmental water samples by automated on-line solid-phase

- extraction-liquid chromatography–tandem mass spectrometry (SPE-LC–MS/MS), *Talanta*, 81 (2010), p. 355-366.
- GIL, L. Cortiça – Produção, Tecnologia e Aplicação, Ed INETI, Lisboa, 1998.
- HIRSCH, R. *et al.* Occurrence of antibiotics in the aquatic environment. *Sci. Total Environ.*, 225:109-118, 1999.
- HOFF, R. Análise de Resíduos de Sulfonamidas em Alimentos por Eletroforese Capilar e Espectroscopia de Massas. Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), dissertação de mestrado, 2008.
- HOLM, J.V. *et al.* Occurrence and distribution of pharmaceutical organic compounds in the groundwater downgradient of a landfill (Grindsted, Denmark). *Environ. Sci. Technol.*, 29 (1995), p. 1415-1420.
- HUELSMANN R. *et al.* Exploring polypyrrole as extraction phase for disposable pipette extraction method for multiclass organic micro-pollutant determination in river and tap water using gas chromatography-mass spectrometry. *J. Braz. Chem. Soc.* (2020), 10.21577/0103-5053.20200119
- HUELSMANN, R. D.; WILL, C.; CARASEK, E. Novel strategy for disposable pipette extraction (DPX): Low-cost Parallel-DPX for determination of phthalate migration from common plastic materials to saliva simulat with GC-MS. *Talanta* 221 (2021) 121443.
- IDE, A. H. Metodologias inovadoras baseadas em microextração estática para análise vestigial de contaminantes emergentes em matrizes reais. Tese de doutorado, Universidade de Lisboa, 2018.
- JUNIOR, C. A. S. A.; DOS SANTOS, A. L. R.; DE FARIA, A. M. Disposable pipette extraction using a selective sorbent for carbendazim residues in orange juice. *ScienceDirect* Volume 309, 30 March 2020, 125756.
- KAJITANI, T. Y., *et al.* Estimativas do coeficiente de partição de fármacos e sua comparação com resultados experimentais. Sociedade Brasileira de Química (SBQ), resumo.
- KANU, A. B. Recent developments in sample preparation technique combined with high-performance liquid chromatography: A critical review. *Journal of Chromatography A*, v. 1654, 462444, 2021. ISSN 0021-9673.
- KERGOAT, L.; *et al.* Environmental Concentrations of Sulfonamides Can Alter Bacterial Structure and Induce Diatom Deformities in Freshwater Biofilm Communities. *Front. Microbiol.*, 07 May 2021.
- LEITE, F. Prevenção de contaminação de vinhos e bebidas pelo uso de rolha de cortiça e madeira de barril. Centro T e E Analítica. Artigo 3. *Revista Analytica – Edição 84 – Ago/Set de 2016.*
- LIMA, A. M. Microextração em fase líquida: antimicrobianos em amostras aquosas ambientais. Abril, 2017.
- LINDBERG, R. *et al.* Determination of antibiotic substances in hospital sewage water using solid phase extraction and liquid chromatography/mass spectrometry and group analogue internal standards. *Chemosphere*, 57 (2004), pp. 1479-1488.
- LINDSEY, M. E.; *et al.* Analysis of Trace Levels of Sulfonamide and Tetracycline Antimicrobials in Groundwater and Surface Water Using Solid-Phase Extraction and Liquid Chromatography/Mass Spectrometry. *Anal. Chem.* 2001, 73, 4640-4646.

- LIU, J., *et al.* Miniaturized salting-out liquid–liquid extraction of sulfonamides from different matrices. *Analytica Chimica Acta*, Volume 679, Issues 1–2, 2010. Pages 74-80. ISSN 0003-2670.
- LU, D. *et al.* Functionalized ionic liquids-supported metal organic frameworks for dispersive solid phase extraction of sulfonamide antibiotics in water samples. *Analytica Chimica Acta*, v. 1133, p. 88-98. 2020. ISSN 0003-2670.
- LUO, Y. *et al.* Magnetic retrieval of graphene: Extraction of sulfonamide antibiotics from environmental water samples. *Journal of Chromatography A*, Volume 1218, Issue 10, 2011. Pages 1353-1358. ISSN 0021-9673.
- MAFRA, G. *et al.* (2018). Expanding the applicability of cork as extraction phase for disposable pipette extraction in multiresidue analysis of pharmaceuticals in urine samples. *Journal of Chromatography B*. v. 1102–1103. p. 159-166. December 2018.
- MALLEK M. *et al.* Granulated cork as biosorbent for the removal of phenol derivatives and emerging contaminants. *Journal of Environmental Management*, Volume 223, 2018, p. 576-585. ISSN 0301-4797,
- MACHADO, L. S. *et al.* Polypyrrole monolithic extraction phase: From conventional to miniaturized sample preparation techniques. *ScienceDirect* Volume 1651, 16 August 2021, 462260.
- MANAGAKI, S. *et al.* Distribution of macrolides, sulfonamides, and trimethoprim in tropical waters: ubiquitous occurrence of veterinary antibiotics in the Mekong Delta. *Environ. Sci. Technol.*, 41 (2007), p. 8004-8010.
- MANZO, V. *et al.* Cork sheet as a sorptive phase to extract hormones from water by rotating-disk sorptive extraction (RDSE). *Analytica Chimica Acta*, v. 1087, p. 1-10, 2019. ISSN 0003-2670.
- MARINI, J. A. S. Determinação de aminoácidos em amostras de conteúdo ileal de suínos utilizando a técnica de microextração em filme fino em sistema 96-WELL PLATE. Dissertação em Química analítica, PPGQMC - UFSC, 2018.
- Martins, J. Desenvolvimento de métodos miniaturizados de extração em fase sólida para a pré-concentração de produtos de degradação de fluoroquinolonas e sulfonamidas em matrizes aquosas. Dissertação em Química analítica e Inorgânica, IQSC-USP, 2015.
- MARTÍNEZ-CARBALLO, E., *et al.* Environmental monitoring study of selected veterinary antibiotics in animal manure and soils in Austria. *Environmental Pollution*, vol. 148, Issue 2, p. 570-579. 2007. ISSN 0269-7491.
- MERIB, J. *et al.* Magnetic ionic liquids as versatile extraction phases for the rapid determination of estrogens in human urine by dispersive liquid-liquid microextraction coupled with high-performance liquid chromatography-diode array detection. *Anal Bioanal Chem.* 2018 Jul;410(19):4689-4699. doi: 10.1007/s00216-017-0823-7. Epub 2018 Jan 8. PMID: 29313077.
- MILLER, S. A., DYKES, D. D., POLESKY, H. F. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res*, v. 16 (3), p. 1215, 1988.
- MINH, T. B. *et al.* Antibiotics in the Hong Kong metropolitan area: ubiquitous distribution and fate in Victoria Harbour. *Mar. Pollut. Bull.*, 58 (2009), p. 1052-1062.

Ministério da Saúde. Disponível em: <http://bvsm.s.saude.gov.br/component/content/article?id=3087>. Acesso em março de 2021.

MONTEIRO, M. K. S. *et al.* Novel cork-graphite electrochemical sensor for voltammetric determination of caffeine. *ScienceDirect, Journal of Electroanalytical Chemistry*, Vol. 839, 2019, pages 283–289.

MONTESANO, C. A μ -SPE procedure for the determination of cannabinoids and their metabolites in urine by LC–MS/MS. *ScienceDirect, Volume 91*, 25 March 2014, Pages 169-175.

MORÉS, L. Cortiça como fase extratora para a técnica de TF-SPME em sistema de 96-well plate para a extração de contaminantes emergentes de amostras de água. Florianópolis, 2016, p. 59.

MORÉS, L. *et al.* A natural and renewable biosorbent phase as a low-cost approach in disposable pipette extraction technique for the determination of emerging contaminants in lake water samples. *Journal of Separation Science*, Vol. 42, No. 7, April 2019. p. 1404-1411. ISSN 1615-9306.

MORÉS, L. Avaliação da cortiça como biossorvente da técnica de microextração em ponteira para determinação de drogas de abuso e biomarcadores em urina humana por técnicas cromatográficas. Tese doutorado, Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Pós-graduação em Química, 2022.

MOSTAFA, A. *et al.* Vortex-assisted dispersive liquid–liquid microextraction using thymol based natural deep eutectic solvent for trace analysis of sulfonamides in water samples: Assessment of the greenness profile using AGREE metric, GAPI and analytical eco-scale. *Microchemical Journal*, v. 183, 2022, 107976. ISSN 0026-265X.

MOUSAVI, F.; BOJKO, B.; PAWLISZYN, J. High-Throughput Solid-Phase Microextraction–Liquid Chromatography–Mass Spectrometry for Microbial Untargeted Metabolomics. Baidoo, E. (eds) *Microbial Metabolomics. Methods in Molecular Biology*, v. 1859. Humana Press, New York, NY, 2018.

NETO, C. *et al.* ^{13}C solid-state nuclear magnetic resonance and Fourier transform infrared studies of the thermal decomposition of cork. *Solid state nuclear magnetic resonance*, v. 4, n. 3, p. 143-151, 1995.

OLIVEIRA A. F. *et al.* Titger - Uma Planilha Eletrônica Para Simulação De Titulação De Mistura De Compostos Polipróticos. *Química Nova*, vol. 30, n. 1, p. 224-228. 2007.

OLIVEIRA, E. A. *et al.* Avaliação da Toxicidade da Sulfametazina em Organismos Aquáticos. 8º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2014. Nº 14413.

OLIVEIRA, E. C. Aplicação da extração em fase sólida na pré-concentração de compostos fenólicos clorados em efluentes de branqueamento de celulose. Dissertação de mestrado da niversidade Federal do Rio Grande do Sul, p. 95. 1999.

OLIVEIRA, I. G. C.; MARCHIONI, C.; QUEIROZ, M. E. C.; Determination of anandamide in cerebrospinal fluid samples by disposable pipette extraction and ultra-high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry. *ScienceDirect*, v. 1130–1131, 2019, 121809.

- OLIVEIRA, T. M. A. Otimização e validação de método analítico para preparo da amostra e determinação simultânea de sulfonamidas em mel. Dissertação de Mestrado apresentada ao programa da Universidade Federal do Maranhão, São Luis. Orientador: Prof. Dr. Adeilton Pereira Maciel. 2012.
- OLIVELLA M. A. *et al.* New insights into the interactions between cork chemical components and pesticides. The contribution of π - π interactions, hydrogen bonding and hydrophobic effect. *Chemosphere*, v. 1, p. 863-870, 2015. ISSN 0045-6535.
- PENA-ABAURREA, M.; Latorre, V.s. García de; Ramos, L.. Ultrasound-assisted extraction followed by disposable pipette purification for the determination of polychlorinated biphenyls in small size biological tissue samples. *Journal Of Chromatography A*, v. 1317, p. 223-229, 2013.
- PEREIRA, H. 2007. Cork: Biology, Production and Uses. Elsevier B.V. (Eds.), p. 336.
- PINTO, M. A. L.; de Souza, I. D.; Queiroz, M. E. C. Determination of drugs in plasma samples by disposable pipette extraction with C18-BSA phase and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *ScienceDirect*, v. 139, p. 116-124, 2017.
- PINTO, M. A. L.; Queiroz, M. E. C. Extração em ponteiros descartáveis: fundamentos teóricos e aplicações. *Scientia Chromatographica*, v. 7(2), p. 101-108, 2015. ISSN 1984-4433
- PŁOTKA-WASYLKA, J. *et al.* Modern trends in solid phase extraction: New sorbent media, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 2016. V. 77, p. 23-43. ISSN 0165-9936.
- PRIETO, A. *et al.* Selective determination of estrogenic compounds in water by microextraction by packed sorbents and a molecularly imprinted polymer coupled with large volume injection-in-port derivatization gas chromatography-mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, v. 703, n. 1, p.41-51, 2011.
- RAMBALDO L. *et al.* Assessment of a novel microalgae-cork based technology for removing antibiotics, pesticides and nitrates from groundwater, *Chemosphere*, Volume 301, 2022, 134777, ISSN 0045-6535.
- RAMBLA-ALEGRE, M.; Esteve-Romero, J.; Carda-Broch, S. Is it really necessary to validate an analytical method or not? That is the question. *Journal of Chromatography A*, v. 1232, p. 101-109, abr. 2012.
- RIBANI, M. *et al.* Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. *Química Nova*, v. 27, n. 5, p. 771-789, jun. 2004.
- HUELSMANN, R. D.; WILL, C.; CARASEK, E. Novel strategy for disposable pipette extraction (DPX): Low-cost Parallel-DPX for determination of phthalate migration from common plastic materials to saliva simulat with GC-MS. *Talanta*, vol. 221; 121443, 2021. ISSN 0039-9140.
- REGITANO, J. B.; LEAL, R. M. P. Comportamento e Impacto Ambiental De Antibióticos Usados Na Produção Animal Brasileira. *R. Bras. Ci. Solo*, 34:601-616, 2010. Disponível em: <https://www.scielo.br/pdf/rbcs/v34n3/02.pdf>. Acesso em mar. 2021.
- SANCO/12571/2013, European commission: health & consumer protection directorate-general: Guidance document on analytical quality control and validation procedures for pesticides residues analysis in food and feed. Belgium, 2013. p. 14.

- SCHWAB, B. W. *et al.* Human pharmaceuticals in US surface waters: a human health risk assessment. *Regul. Toxicol. Pharm.*, 42, p. 296-312. 2005.
- SEIFRTOVÁ, M. *et al.* An overview of analytical methodologies for the determination of antibiotics in environmental waters. *Analytica Chimica Acta* 649 (2009) 158–179.
- SHAABAN, H., GÓRECKI, T. Optimization and validation of a fast ultrahigh-pressure liquid chromatographic method for simultaneous determination of selected sulphonamides in water samples using a fully porous sub-2 µm column at elevated temperature. *Liquid Chromatography*, Issue 2, v. 35, p. 216-224, 2012.
- SHAHRIMAN, M. S. *et al.*; Paper-based polymeric ionic liquid for thin film microextraction of sulfonamides in environmental water samples prior to HPLC-DAD analysis. *Microchemical Journal*, vol 171, 2021, 106798. ISSN 0026-265X.
- SHIMIZU, A. *et al.* Ubiquitous occurrence of sulfonamides in tropical Asian Waters. *Science of The Total Environment*, vol. 452–453, p. 108-115. 2013.
- SILVA, A.C., DIAS, A. N., CARASEK, E. Exploiting Cork as Biosorbent Extraction Phase for Solid-Phase Microextraction to Determine 3-(4-Methylbenzylidene)camphor and 2-Ethylhexyl 4-(Dimethylamino)benzoate in River Water by Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *J. Braz. Chem. Soc.*, v. 28, No. 12, p. 2341-2347, 2017.
- SILVA, S. P. *et al.* Cork: properties, capabilities and applications, *International Materials Reviews*, 50:6, 345-365, DOI: 10.1179/174328005X41168, 2005.
- SOTO-CHINCHILLA, J. J. *et al.* Application of capillary zone electrophoresis with large-volume sample stacking to the sensitive determination of sulfonamides in meat and ground water. *Electrophoresis* n. 27, p. 4060–4068. 2006.
- SUKUL, P. *et al.* Sorption and desorption of sulfadiazine in soil and soil-manure systems. *Chemosphere*, v. 73, issue 8, p. 1344-1350. 2008. ISSN 0045-6535.
- SUN, L. *et al.* Analysis of sulfonamides in environmental water samples based on magnetic mixed hemimicelles solid-phase extraction coupled with HPLC–UV detection. *Chemosphere*, v. 77, Issue 10, p. 1306-1312, 2009. ISSN 0045-6535.
- TAVARES, L. S. Padronização e validação analítica dos métodos DPX-RAM/LC-MS e MIP-PSI-MS para análise de cocaína em fluido oral. Universidade Federal de Goiás, 2017. Orientadora: Dra. Andréa Rodrigues Chaves. Dissertação de mestrado.
- TOLMACHEVA, V. V. Facile synthesis of magnetic hypercrosslinked polystyrene and its application in the magnetic solid-phase extraction of sulfonamides from water and milk samples before their HPLC determination. *Talanta*, v. 152, p. Pages 203-210. 2016. ISSN 0039-9140.
- TOMASIN, G. S.; Silva, W. R.; Costa, B. E. S.; Coelho, N. M. M. Highly sensitive determination of Cu(II) ions in hemodialysis water by F AAS after disposable pipette extraction (DPX) using *Moringa oleifera* as solid phase. *Microchemical Journal*, v. 161, 2021, 105749. ISSN 0026-265X.
- TURAZZI, F. C. Aplicação de Fase Extratora à Base De Polipirrol para a Determinação de Hormônios e Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos em Amostras de Água Pela Técnica de Extração em Ponteira Descartável. Dissertação de mestrado - Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), p. 81. 2019.

UKESSAYS. Sulfonamides Partition Coefficient Analysis. Retrieved. Disponível em: <https://www.ukessays.com/essays/biology/the-drug-substance-analysis-of-sulfonamides-biology-essay.php?vref=1>. Acesso em: junho, 2021.

VIEIRA, C. M. S. A high throughput approach to rotating-disk sorptive extraction (RDSE) using laminar cork for the simultaneous determination of multiclass organic micro-pollutants in aqueous sample by GC-MS. *Talanta*, v. 208, 2020, 120459, ISSN 0039-9140.

VIEIRA, C. M. S. Desenvolvimento de método empregando microextração em fase líquida suportada por membrana oca (hf-lpme) para determinação de sulfonamidas em água superficial por hplc-dad. Dissertação de mestrado - Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), p. 82. 2015.

WANG, Y.; *et al.* Simultaneous Determination of Sulfonamides Antibiotics in Environmental Water and Seafood Samples Using Ultrasonic-Assisted Dispersive Liquid-Liquid Microextraction Coupled with High Performance Liquid Chromatography. *Molecules* 2022, 27, 2160.

WERTH, B. J. Sulfonamidas. Manual MSD-Versão para profissionais da saúde. Disponível em: <https://www.msmanuals.com/ptbr/profissional/SearchResults?query=sulfonamidas>. Acesso em: março de 2021.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). *The world's medicines situation*. Geneva; 2004

YANG, Y. *et al.* β -Cyclodextrin-/AuNPs-functionalized covalent organic framework-based magnetic sorbent for solid phase extraction and determination of sulfonamides. *Microchim Acta* 187, 278 (2020).