



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS FÍSICAS E MATEMÁTICAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
CURSO DE BACHARELADO EM QUÍMICA

João Pedro Ossucci Martins

**DETERMINAÇÃO DE NOVE CONTAMINANTES EM AMOSTRAS DE ÁGUA VIA
EXTRAÇÃO EM PONTEIRA DISPERSIVA (DPX) COM DISPOSITIVO
AUTOMATIZADO E ANÁLISE POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA
EFICIÊNCIA COM DETECTOR DE ARRANJO DE DIODOS (HPLC-DAD)**

Florianópolis

2024

João Pedro Ossucci Martins

**DETERMINAÇÃO DE NOVE CONTAMINANTES EM AMOSTRAS DE ÁGUA VIA
EXTRAÇÃO EM PONTEIRA DISPERSIVA (DPX) COM DISPOSITIVO
AUTOMATIZADO E ANÁLISE POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA
EFICIÊNCIA COM DETECTOR DE ARRANJO DE DIODOS (HPLC-DAD)**

Trabalho de Conclusão de Curso submetido ao curso de Química Bacharelado do Centro de Ciências Físicas e Matemáticas da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Química.

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Carasek da Rocha
Coorientador: Augusto Fidelis Bortolotto

Florianópolis

2024

Martins, João Pedro Ossucci

Determinação de nove contaminantes em amostras de água via extração em ponteira dispersiva (DPX) com dispositivo automatizado e análise por cromatografia líquida de alta eficiência com detector de arranjo de diodos (HPLC-DAD) / João Pedro Ossucci Martins ; orientador, Eduardo Carasek da Rocha, coorientador, Augusto Fidelis Bortolotto, 2024.

76 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) -
Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Físicas e Matemáticas, Graduação em Química - Bacharelado, Florianópolis, 2024.

Inclui referências.

1. Química - Bacharelado. 2. DPX. 3. preparo de amostra. 4. automatização. 5. contaminantes. I. da Rocha, Eduardo Carasek. II. Bortolotto, Augusto Fidelis. III. Universidade Federal de Santa Catarina. Graduação em Química - Bacharelado. IV. Título.

João Pedro Ossucci Martins

Determinação de nove contaminantes em amostras de água via extração em ponteira dispersiva (DPX) com dispositivo automatizado e análise por cromatografia líquida de alta eficiência com detector de arranjo de diodos (HPLC-DAD)

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do título de Bacharel em Química e aprovado em sua forma final pelo Curso Bacharelado em Química.

Florianópolis, 06 de Dezembro de 2024.



Coordenação do Curso

Banca examinadora



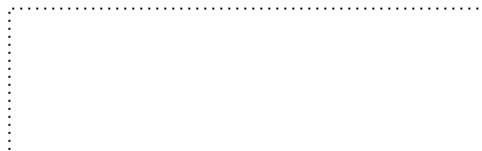
Prof. Dr. Eduardo Carasek da Rocha

Orientador



Profa. Dra. Tatiane de Andrade Maranhão

Universidade Federal de Santa Catarina



Msc. Camila Pesenato Magrin

Universidade Federal de Santa Catarina

Florianópolis, 2024.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus, pela infinita bondade e misericórdia para comigo, e por ter me sustentado até aqui.

Agradeço aos meus pais, Cláudio e Rosemeiry, por sempre terem me apoiado em todas as decisões e por não medirem esforços para que eu pudesse aprender e alcançar meus objetivos. Obrigado por todo o apoio, pela confiança, pelo amor incondicional e pelos valores e princípios que me ensinaram. Sou grato por estarem sempre ao meu lado, independentemente da situação, e por me guiarem em cada passo da minha vida. Amo muito vocês!

Aos meus familiares, que sempre torceram por mim e me incluíram em suas orações, expresso aqui meu enorme carinho por cada um de vocês.

Sou grato também aos amigos da igreja, que me apoiaram em oração e sempre me ofereceram palavras de incentivo e força ao longo dessa jornada.

Agradeço ao meu orientador, Professor Eduardo Carasek, pela paciência, pelo apoio e por todo conhecimento transmitido, fundamentais para o meu crescimento acadêmico. Agradeço pela oportunidade de ter sido seu aluno de Iniciação Científica, por acreditar em mim e por permitir que eu fizesse parte do grupo de pesquisa do laboratório CroMaas, pelo qual tenho grande apreço.

Ao meu coorientador, Augusto, agradeço por toda a ajuda no planejamento e desenvolvimento desse trabalho, pelos conselhos, pela generosidade em compartilhar seu conhecimento e pela parceria demonstrada ao longo do processo.

Sou grato aos amigos e colegas do CroMaas, Amanda, Camila, Cristian, Elisandra, Francielle, Gabrieli, Lucas, Luciane, Luísa, Natália e Ricardo, por contribuírem de alguma forma com este trabalho e pelos momentos de conversa, conselhos e aprendizado no laboratório.

Agradeço também aos amigos e colegas da graduação, pelos momentos vividos e pela companhia ao longo desta jornada.

Expresso minha gratidão aos professores que se dedicaram a transmitir conhecimento e confiaram em meu potencial.

Agradeço à Universidade Federal de Santa Catarina, pela oportunidade de receber um ensino público, gratuito e de qualidade.

Finalmente, agradeço ao PIBIC/CNPq, pela bolsa de Iniciação Científica e pela oportunidade concedida para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
2.1. Recursos Hídricos e Contaminantes	16
2.2. Analitos e Suas Classes	16
2.2.1. Conservantes	18
2.2.2. Fármacos	18
2.2.3. Hormônios	19
2.2.4. Pesticidas	20
2.3. Preparo de Amostra	21
2.3.1. Extração em Ponteira Dispersiva	22
2.4. Automatização na Química Analítica	24
3. OBJETIVOS	25
3.1. Objetivo Geral	25
3.2. Objetivos Específicos	25
4. METODOLOGIA	26
4.1. Materiais e Reagentes	26
4.1.1. Coleta das Amostras	26
4.2. Instrumentação	27
4.3. Otimização dos Parâmetros da DPX	29
4.3.1. Otimização do Solvente de Dessorção	29
4.3.2. Otimização dos Ciclos de Dessorção	30
4.3.3. Otimização dos Ciclos de Limpeza das Ponteiras	30
4.3.4. Otimização do pH	31
4.3.5. Otimização dos Ciclos de Extração e do Efeito <i>Salting-Out</i>	31
4.4. Parâmetros Analíticos de Mérito	32
4.5. Segurança no Laboratório e Tratamento dos Resíduos Gerados	32
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
5.1. Otimizações dos Parâmetros da DPX	33
5.1.1. Otimização do Solvente de Dessorção	33
5.1.2. Otimização dos Ciclos de Dessorção	34
5.1.3. Otimização dos Ciclos de Limpeza das Ponteiras	35
5.1.4. Otimização do pH	36
5.1.5. Otimização dos Ciclos de Extração e Efeito <i>Salting-Out</i>	38

5.2. Preparo da Amostra	39
5.3. Parâmetros Analíticos de Mérito.....	40
5.4. Análises das Amostras	46
5.5. Avaliação da Sustentabilidade do Método.....	51
6. CONCLUSÕES	54
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	55
APÊNDICE A – Dados dos Testes Estatísticos para a Seleção do Solvente de Dessorção	64
APÊNDICE B – Dados dos Testes Estatísticos para a Seleção dos Ciclos de Dessorção	65
APÊNDICE C – Dados dos Testes Estatísticos para a Seleção do pH.....	66
APÊNDICE D – Dados dos Testes Estatísticos para a Seleção dos Ciclos de Extração e Sal	76

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Aspiração da amostra juntamente ao ar para a interação dos analitos com o sorvente.....	23
Figura 2: Mapa de coleta das amostras.	27
Figura 3: Dispositivo automatizado (Au-Pa-DPX) utilizado no trabalho.....	27
Figura 4: Superfície de resposta da otimização do solvente de dessorção ($R^2=0,996$).	33
Figura 5: Comparação das respostas obtidas entre os números de ciclos de dessorção.....	34
Figura 6: Comparação das respostas obtidas entre os números de ciclos de limpeza das ponteiras.....	36
Figura 7: Comparação das respostas obtidas individualmente para cada analito em diferentes pHs.	37
Figura 8: Comparação das respostas obtidas com os diferentes pHs para a média geométrica das áreas normalizadas dos analitos.....	38
Figura 9: Planejamento Doehlert para o número de ciclos de extração e a porcentagem de sal.....	39
Figura 10: Cromatogramas obtidos a 280 nm para a amostra branco (em preto, amostra 1) e a amostra fortificada (em vermelho, fortificada a $10 \mu\text{g L}^{-1}$), ambas submetidas ao método de extração otimizado.	46
Figura 11: Cromatogramas obtidos a 280 nm para a amostra branco (em preto, amostra 2) e a amostra fortificada (em vermelho, fortificada a $10 \mu\text{g L}^{-1}$), ambas submetidas ao método de extração otimizado.	46
Figura 12: A- Cromatogramas obtidos a 250 nm para a amostra branco (em preto, amostra 3) e a amostra fortificada (em vermelho, fortificada a $10 \mu\text{g L}^{-1}$), ambas submetidas ao método de extração otimizado. B- Cromatogramas obtidos a 275 nm para a amostra branco (em preto, amostra 3) e a amostra fortificada (em vermelho, fortificada a $10 \mu\text{g L}^{-1}$), ambas submetidas ao método de extração otimizado. C- Cromatogramas obtidos a 280 nm para a amostra branco (em preto, amostra 3) e a amostra fortificada (em vermelho, fortificada a $10 \mu\text{g L}^{-1}$), ambas submetidas ao método de extração otimizado.	47

Figura 13: Cromatogramas obtidos a 280 nm para a amostra branco (em preto, amostra 4) e a amostra fortificada (em vermelho, fortificada a 10 $\mu\text{g L}^{-1}$), ambas submetidas ao método de extração otimizado.	48
Figura 14: Cromatogramas obtidos a 280 nm para a amostra branco (em preto, amostra 5) e a amostra fortificada (em vermelho, fortificada a 10 $\mu\text{g L}^{-1}$), ambas submetidas ao método de extração otimizado.	48
Figura 15: Cromatogramas obtidos a 280 nm para a amostra branco (em preto, amostra 6) e a amostra fortificada (em vermelho, fortificada a 10 $\mu\text{g L}^{-1}$), ambas submetidas ao método de extração otimizado.	49
Figura 16: Cromatogramas obtidos a 280 nm para a amostra branco (em preto, amostra 7) e a amostra fortificada (em vermelho, fortificada a 10 $\mu\text{g L}^{-1}$), ambas submetidas ao método de extração otimizado.	49
Figura 17: Relatório de sustentabilidade do método proposto.	52

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Estruturas químicas, propriedades físico-químicas e classificações dos analitos avaliados.....	17
Tabela 2: Monitoramento dos analitos por HPLC-DAD.	28
Tabela 3: Programa de eluição por gradiente.....	29
Tabela 4: Planejamento simplex-centróide usado na otimização do solvente de dessorção.....	30
Tabela 5: Planejamento Doehlert utilizado na otimização dos ciclos de extração e efeito <i>salting-out</i>	31
Tabela 6: Parâmetros analíticos de mérito.	41
Tabela 7: Precisão intradia e interdia.	42
Tabela 8: Recuperações em água de rio e água de torneira.....	43
Tabela 9: Tabela comparativa com outros trabalhos da literatura.	45
Tabela 10: Resumo da concentração dos analitos nas amostras.....	50

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACN	Acetonitrila
DPX	Extração em Ponteira Dispersiva (do inglês <i>Dispersive Pipette Extraction</i>)
ECs	Contaminantes Emergentes (do inglês <i>Emerging Contaminants</i>)
EDs	Disruptores Endócrinos (do inglês <i>Endocrine Disruptors</i>)
EtOH	Etanol
GAC	Química Analítica Verde (do inglês <i>Green Analytical Chemistry</i>)
HPLC-DAD	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com Detector de Arranjo de Diodos (do inglês <i>High Performance Liquid Chromatography with Diode Array Detection</i>)
LLE	Extração Líquido-Líquido (do inglês <i>Liquid-Liquid Extraction</i>)
MeOH	Metanol
Au-Pa-DPX	Dispositivo Automatizado para Extração Paralela em Ponteira Dispersiva (do inglês <i>Automated Device for Parallel Dispersive Pipette Extraction</i>)
SLE	Extração Sólido-Líquido (do inglês <i>Solid-Liquid Extraction</i>)
SPE	Extração em Fase Sólida (do inglês <i>Solid Phase Extraction</i>)
SPME	Microextração em Fase Sólida (do inglês <i>Solid Phase Microextraction</i>)
UHPLC-MS/MS	Cromatografia Líquida de Ultra-Alta Eficiência com Espectrometria de Massas em Tandem (do inglês <i>Ultra-High Performance Liquid Chromatography with Tandem Mass Spectrometry</i>)
USEPA	Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (do inglês <i>United States Environmental Protection Agency</i>)
VMPs	Valores Máximos Permitidos

RESUMO

Este trabalho descreve a aplicação de um método automatizado de extração em ponteira dispersiva paralela (Au-Pa-DPX) para a determinação de nove compostos orgânicos de diferentes classes (fármacos, pesticidas, conservantes e hormônios) em amostras de água de rio, com separação e detecção realizadas por HPLC-DAD. O preparo da amostra envolveu a otimização de parâmetros de extração e dessorção para garantir a detecção precisa dos analitos. A acetonitrila (ACN) foi utilizada como solvente de dessorção em três ciclos na mesma alíquota. Para evitar o efeito memória, quatro ciclos de limpeza com ACN foram realizados nas ponteiras de DPX. O pH foi ajustado para 8, com nove ciclos de extração em alíquotas distintas, sem adição de sal. Para o método Au-Pa-DPX, o coeficiente de determinação (R^2) variou de 0,9984 a 0,9998. Os limites de detecção (LODs) foram de $0,33 \mu\text{g L}^{-1}$ a $1,67 \mu\text{g L}^{-1}$, enquanto os limites de quantificação (LOQs) foram de $1,00 \mu\text{g L}^{-1}$ a $5,00 \mu\text{g L}^{-1}$. A precisão interdia e intradia variou de 6,85% a 18,35% e 0,96% a 9,50%, respectivamente. Os valores de recuperação relativa obtidos com o método proposto variaram de 89,88% a 125,56%. A soma das concentrações dos analitos nas amostras de água de rio variou de não detectado a $23,33 \mu\text{g L}^{-1}$. Além disso, quando comparado a outros métodos da literatura, mostrou-se uma alternativa mais verde, com alta frequência analítica (4,15 minutos por amostra, no preparo de amostra), baixo consumo de solventes e amostra, gerando menos resíduos e reduzindo os riscos à saúde do analista. Este estudo destaca a importância da análise multiclasse para o monitoramento ambiental abrangente.

PALAVRAS-CHAVE: DPX, preparo de amostra, HPLC-DAD, automatização, contaminantes emergentes.

ABSTRACT

This work describes the application of an automated parallel dispersive pipette extraction (Au-Pa-DPX) method for the determination of nine organic compounds across different classes, including pharmaceuticals, pesticides, preservatives, and hormones, in river water samples. The separation and detection of these compounds were performed using high performance liquid chromatography with diode array detector (HPLC-DAD). Sample preparation involved optimizing extraction and desorption parameters to ensure the accurate detection of analytes. Acetonitrile (ACN) was used as the desorption solvent in three cycles within the same aliquot. To prevent carry-over effects, four cleaning cycles with ACN were conducted on the DPX pipette tips. The pH was adjusted to 8, nine extraction cycles were performed with distinct aliquots, and no salt was added. For the Au-Pa-DPX method, the coefficient of determination (R^2) ranged from 0.9984 to 0.9998. Limits of detection (LODs) ranged from $0.33 \mu\text{g L}^{-1}$ to $1.67 \mu\text{g L}^{-1}$, while limits of quantification (LOQs) ranged from $1.00 \mu\text{g L}^{-1}$ to $5.00 \mu\text{g L}^{-1}$. Interday and intraday precisions ranged from 6.85% to 18.35% and 0.96% to 9.50%, respectively. The relative recovery values obtained with the proposed method ranged from 89.88% to 125.56%. The sum of the found concentrations of analytes in the river water samples ranged from undetected to $23.33 \mu\text{g L}^{-1}$. Furthermore, when compared to other methods from the literature, it is an interesting green alternative for the determination of these analytes in water samples, with high throughput (4.15 min per sample, in sample preparation step), low consumption of solvents and samples, generating less waste and reducing health risks to the analyst. This study underscores the importance of multiclass analysis for comprehensive environmental monitoring.

KEYWORDS: DPX, sample preparation, HPLC-DAD, automation, emerging contaminants.

1. INTRODUÇÃO

Com a crescente urbanização e o acelerado aumento populacional, a contaminação dos recursos hídricos por compostos orgânicos tem se tornado uma questão de extrema preocupação. Isso ocorre não apenas pelos impactos diretos no meio ambiente, mas também devido aos riscos significativos que esses poluentes representam para a saúde humana. Dentre as substâncias de maior interesse destacam-se os chamados contaminantes emergentes (ECs, do inglês *Emerging Contaminants*). Estes compostos, que incluem fármacos, conservantes, hormônios e outras substâncias químicas, têm sido encontrados em águas de rios, lagos e até mesmo em águas subterrâneas, refletindo a crescente e contínua introdução desses contaminantes no ambiente.

Os ECs representam um desafio para a comunidade científica e para os órgãos reguladores, pois apresentam potenciais riscos tóxicos, carcinogênicos e disruptores endócrinos. Além disso, muitos desses compostos ainda não são regulamentados pelas agências de controle ambiental e frequentemente estão ausentes dos programas convencionais de monitoramento. A falta de diretrizes específicas para a detecção e controle desses compostos reflete a complexidade envolvida em sua análise. Essa lacuna regulatória impulsiona a necessidade de pesquisas para o desenvolvimento de métodos analíticos sensíveis, seletivos e confiáveis que permitam a detecção e quantificação desses contaminantes em matrizes ambientais complexas.

A contaminação por ECs e outros compostos orgânicos ocorre normalmente em níveis de traços nas águas superficiais, ou seja, na ordem de microgramas à nanogramas por litro. Além disso, a presença de diversos interferentes químicos e biológicos faz com que a água seja uma matriz complexa, que requer tratamentos específicos para isolar, identificar e quantificar os analitos. A fim de superar essas dificuldades, uma etapa essencial no processo analítico é o preparo de amostra, que visa minimizar os efeitos da matriz, isolar e pré-concentrar os analitos, e garantir que eles sejam compatíveis com as técnicas de detecção subsequentes, como a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC, do inglês *High Performance Liquid Chromatography*).

Neste contexto, a busca por metodologias analíticas mais verdes e sustentáveis, alinhadas aos princípios da Química Analítica Verde (GAC, do inglês

1 *Green Analytical Chemistry*), tem ganhado destaque. Técnicas de microextração,
2 como a extração em ponteira dispersiva (DPX, do inglês *Dispersive Pipette*
3 *Extraction*), têm se mostrado alternativas promissoras quando comparadas às
4 técnicas tradicionais de extração. As metodologias miniaturizadas, como a DPX,
5 oferecem diversas vantagens, incluindo maior frequência analítica, menor geração de
6 resíduos, redução do consumo de solventes e amostra, maior simplicidade
7 operacional e viabilidade de automatização, tornando-as especialmente atraentes
8 para aplicações em larga escala no monitoramento ambiental.

9 Diante desse cenário, o presente trabalho propõe a utilização da técnica de
10 DPX para a extração de nove compostos orgânicos de diferentes classes, incluindo
11 conservantes (metilparabeno, etilparabeno, propilparabeno e butilparabeno),
12 fármacos (indometacina e naproxeno), hormônios (17 α -etinilestradiol) e pesticidas
13 (carbofurano e diuron) em amostras de água. Foi utilizado um dispositivo
14 automatizado para extração em ponteira dispersiva paralela (Au-Pa-DPX, do inglês
15 *Automated Device for Parallel Dispersive Pippete Extraction*) no preparo de amostra,
16 permitindo a automatização do processo e aumento da frequência analítica. A técnica
17 de DPX foi otimizada visando melhorar a seletividade e sensibilidade na extração
18 desses compostos, com posterior análise e quantificação por HPLC com detector de
19 arranjo de diodos (DAD, do inglês *Diode Array Detection*). Este estudo contribui para
20 o avanço das técnicas analíticas aplicadas ao monitoramento ambiental, oferecendo
21 uma solução inovadora e sustentável para a detecção e quantificação de
22 contaminantes orgânicos em matrizes aquosas.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Recursos Hídricos e Contaminantes

Os recursos hídricos, juntamente ao ecossistema como um todo, estão cada vez mais sujeitos à contaminação devido ao intenso crescimento populacional e econômico, bem como às atividades antropogênicas que impactam na qualidade do ambiente aquático^{1,2}. Isso ocorre por meio dos efluentes industriais e domésticos que são lançados de forma inadequada, além da falta de um sistema eficaz de tratamento de água^{3,4}. Essa situação gera grande preocupação com a disponibilidade e qualidade dos recursos hídricos, que são limitados e essenciais para a vida^{3,5}. A preservação da água é fundamental para o equilíbrio ambiental e para a sociedade^{4,5}.

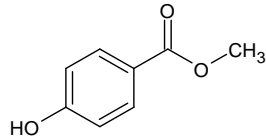
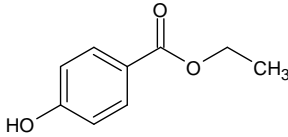
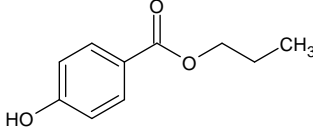
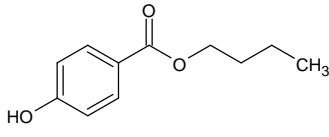
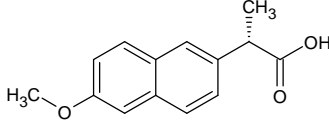
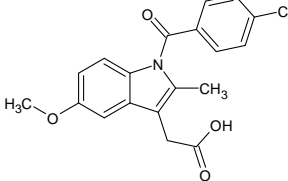
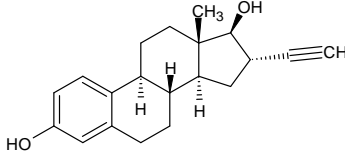
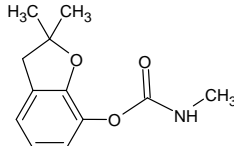
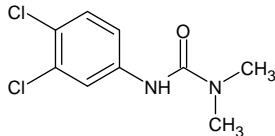
Os corpos hídricos frequentemente estão contaminados por diversos compostos orgânicos, incluindo ECs. Esses contaminantes são introduzidos na natureza por fontes antrópicas, como efluentes domésticos e hospitalares, resíduos industriais e atividades agrícolas⁶⁻⁸. Eles podem representar riscos à saúde humana e ao meio ambiente, devido aos seus potenciais efeitos ecotoxicológicos, de bioacumulação e aos impactos nocivos aos organismos vivos⁶⁻⁹.

Os ECs são compostos que têm chamado a atenção dos pesquisadores devido aos impactos na saúde humana e de outros seres vivos⁶. Eles não estão incluídos nos programas de monitoramento de rotina pela ausência de uma legislação específica, embora representem riscos ao ecossistema^{10,11}. Entre esses contaminantes, destacam-se as classes dos fármacos, hormônios, produtos de higiene, poluentes orgânicos persistentes, subprodutos de processos de desinfecção de águas e conservantes^{7,9,10}. Sua presença em sistemas aquáticos ocorre em concentrações extremamente baixas, na ordem de microgramas a nanogramas por litro, chamadas de níveis traço, o que torna a avaliação de risco ainda mais complexa, considerando que seus efeitos a longo prazo ainda não são completamente conhecidos^{1,6,11}.

2.2. Analitos e Suas Classes

Para este trabalho, é abordado a presença de nove analitos de quatro diferentes classes em amostras de água superficiais. A Tabela 1 apresenta os analitos e algumas de suas características físico-químicas, juntamente com suas respectivas classificações.

1 **Tabela 1:** Estruturas químicas, propriedades físico-químicas e classificações dos
 2 analitos avaliados.

Analitos	Estrutura Química	log K _{ow}	pKa	Classificação
Metilparabeno ^a		1,96	8,17	Conservante
Etilparabeno ^a		2,47	8,22	Conservante
Propilparabeno ^a		3,04	8,35	Conservante
Butilparabeno ^a		3,57	8,37	Conservante
Naproxeno ^b		3,18	4,15	Fármaco
Indometacina ^b		4,27	4,5	Fármaco
17 α -Etinilestradiol ^c		4,12	10,46	Hormônio
Carbofurano ^d		1,76	10,09	Pesticida
Diuron ^d		2,68	13,55	Pesticida

3 **Fonte:** Autoria Própria (2024). Dados obtidos de: ^a(HAMAN *et al.*, 2015)¹², ^b(ABUHASSAN *et al.*,
 4 2021)¹³, ^c(MERIB *et al.*, 2018)¹⁴ e ^d(CORAZZA *et al.*, 2019)¹⁵.

1 **2.2.1. Conservantes**

2 Os conservantes estudados pertencem ao grupo dos parabenos, ésteres
3 provenientes do ácido *para*-hidroxibenzóico, com substituintes alquílicos variando do
4 metil ao butil, e uma estrutura que contém um fenol e um grupo éster ligado na posição
5 *para* do anel aromático¹². Esses compostos são usados como antimicrobianos e
6 conservantes principalmente contra fungos, bolores e proliferação de leveduras¹².
7 Devido sua ampla eficiência e baixo custo, são empregados em uma variedade de
8 produtos, incluindo produtos farmacêuticos, alimentos e bebidas, itens de cuidado
9 pessoal e em combinação com outros conservantes^{12,15,16}.

10 O uso dos parabenos está associado a diversas complicações para a saúde
11 humana, tais como a desregulação do sistema endócrino, redução da secreção de
12 testosterona e função reprodutiva masculina, e ainda podem estar relacionados ao
13 câncer de mama^{12,17}.

14 Esses parabenos são utilizados como conservantes desde 1920, mas os
15 resultados de sua ocorrência em ambientes aquáticos só foram publicados em
16 1996^{12,18}. Devido ao elevado consumo e descarte contínuo no meio ambiente, esses
17 compostos podem ser considerados 'pseudo-persistentes'. Além disso, seu alto
18 coeficiente de partição octanol-água (K_{ow}) pode resultar em bioacumulação nos
19 organismos^{19,20}. A detecção desses compostos em amostras de águas superficiais,
20 mesmo em baixas concentrações ($\mu\text{g L}^{-1}$), pode estar associada aos efluentes
21 urbanos, domésticos e industriais^{15,17}. Além disso, a falta de regulamentação e
22 monitoramento desses parabenos em águas de abastecimento público torna-os uma
23 possível ameaça à saúde humana e ao meio ambiente.^{15,17,21}

24

25 **2.2.2. Fármacos**

26 Os fármacos incluem todo tipo de medicamento comercializado com ou sem
27 prescrição médica, sendo utilizados para o tratamento ou prevenção de doenças na
28 medicina humana ou de uso veterinário, e em suplementos alimentares⁶. Essas
29 substâncias químicas biologicamente ativas são sintetizadas com a finalidade de
30 produzir respostas biológicas no organismo alvo³. No entanto, muitas delas podem
31 ser bioacumuladas, tornando-se fontes de contaminação quando liberadas no meio
32 ambiente por efluentes industriais, hospitalares e domésticos, causando efeitos
33 adversos tanto ao ecossistema quanto à saúde humana^{6,22,23}.

1 Os fármacos, que incluem anti-inflamatórios, pertencem a uma das classes de
2 ECs mais estudadas no mundo e a segunda mais estudada no Brasil^{6,24}. Eles podem
3 ser encontrados em matrizes ambientais com concentrações muito baixas na ordem
4 de $\mu\text{g L}^{-1}$ e ng L^{-1} , devido ao uso extensivo pela população e seu despejo inadequado
5 nos corpos hídricos^{25,26}. Pela ausência de dados toxicológicos conclusivos que
6 permitam o estabelecimento de VMPs na água de consumo, essas substâncias
7 farmacêuticas não estão contempladas nos programas de controle e vigilância da
8 qualidade de água no Brasil²⁷.

9 O descarte inadequado de fármacos no ambiente pode levar à contaminação
10 dos recursos hídricos, além de contribuir para a resistência a medicamentos entre
11 micro-organismos patogênicos, devido à exposição a baixas concentrações de
12 fármacos ao longo do tempo^{3,26}.

14 **2.2.3. Hormônios**

15 Hormônios são substâncias que atuam em células específicas ou em todo o
16 organismo, ajudando a manter o equilíbrio interno e regulando várias funções do
17 corpo, como o crescimento e o desenvolvimento²⁸. Entre os hormônios, há as classes
18 dos estrogênios naturais, dos estrogênios sintéticos e os xenoestrogênios⁶. Alguns
19 desses compostos, conhecidos como interferentes ou disruptores endócrinos (EDs,
20 do inglês Endocrine Disruptors), são definidos pela Agência de Proteção Ambiental
21 dos Estados Unidos (EPA, do inglês Environmental Protection Agency) como agentes
22 exógenos²⁷. Eles interferem na síntese, secreção, transporte, ligação, ação ou
23 eliminação de hormônios naturais, que são responsáveis pela manutenção,
24 reprodução, desenvolvimento e comportamento dos organismos, mesmo em níveis
25 traço²⁷. Eles podem interferir em mecanismos regulados por hormônios, e provocam
26 efeitos mesmo em baixas concentrações, causando reações adversas à saúde e aos
27 organismos aquáticos^{29,30}.

28 O 17α -etinilestradiol, analito estudado nesse trabalho, é um exemplo de um
29 estrogênio sintético e é utilizado como contraceptivo^{31,32}. Os estrogênios sintéticos são
30 esteroides que tiveram suas estruturas moleculares alteradas, e possuem alto
31 potencial estrogênico, pois foram sintetizados com o objetivo de agir diretamente no
32 sistema endócrino^{6,33}. Alguns estudos concluíram que o 17α -etinilestradiol pode
33 reduzir a fertilização de ovos de peixes em determinadas concentrações e causar
34 danos ao sistema reprodutor de outras espécies, como peixes e sapos³³⁻³⁶. Além

1 disso, esse composto pode levar ao desequilíbrio das populações em diversos
2 ambientes aquáticos e, no pior cenário, à extinção de espécies.^{34,35}

3 A contaminação dos ambientes hídricos pelos EDs deve-se principalmente aos
4 efluentes domésticos e industriais, pois esses compostos não são totalmente
5 eliminados dos efluentes no processo de tratamento de esgoto^{28,34,37}. Devido aos altos
6 valores de K_{ow} e à baixa solubilidade em água, esses contaminantes tendem a se
7 aderir firmemente aos sedimentos e a bioacumularem em organismos aquáticos,
8 contribuindo para a persistência desses no ambiente^{22,38}.

9

10 **2.2.4. Pesticidas**

11 Os pesticidas são compostos largamente utilizados na agricultura ao redor do
12 planeta, e entre suas principais funções estão a melhora da qualidade dos produtos e
13 aumento da produtividade^{39,40}. Os pesticidas, também chamados de agrotóxicos ou
14 defensivos agrícolas, são a classe de compostos orgânicos mais estudada no Brasil,
15 o que é justificável, tendo em vista que o país é o maior consumidor de tais
16 substâncias no mundo^{6,41}. Esses compostos são altamente tóxicos a longo prazo, de
17 difícil degradação, persistentes, e podem ser biomagnificados ao longo da cadeia
18 alimentar, causando diversos problemas à saúde humana⁴²⁻⁴⁵.

19 Rios próximos a regiões com intensa atividade agrícola estão mais suscetíveis
20 a serem contaminados com agrotóxicos, cujo uso inadequado pode acarretar danos
21 ao ambiente e à saúde⁴⁶. Quanto ao monitoramento dos pesticidas em recursos
22 hídricos, o governo federal estabeleceu VMPs para pesticidas em água potável que
23 estão na faixa de $\mu\text{g L}^{-1}$, limites que podem ser obtidos por HPLC-DAD juntamente a
24 um preparo de amostra eficiente, resultando em custos mais baixos se comparados a
25 equipamentos mais robustos, como por cromatografia líquida de ultra-alta eficiência
26 com espectrometria de massas em tandem (UHPLC-MS/MS, do inglês *Ultra-High*
27 *Performance Liquid Chromatography with Tandem Mass Spectrometry*)⁴⁷.

28 No Brasil, a Portaria GM/MS nº 888/21⁴⁸ estabelece valores máximos
29 permitidos de $20 \mu\text{g L}^{-1}$ para o diuron e $7 \mu\text{g L}^{-1}$ para o carbofurano em água potável.
30 A Diretiva de Água Potável da União Europeia 98/83/CE⁴⁹ limita pesticidas individuais,
31 incluindo diuron e carbofurano, a $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$. Já a Diretiva-Quadro da Água
32 2000/60/EC⁵⁰ e a Diretiva 2008/105/EC⁵¹ estabelecem padrões de qualidade
33 ambiental para o diuron em $0,2 \mu\text{g L}^{-1}$ (média anual) e $1,8 \mu\text{g L}^{-1}$ (máximo). Para o
34 carbofurano, os limites são $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$ (média anual) e $0,45 \mu\text{g L}^{-1}$ (máximo) em águas

1 superficiais. Nos Estados Unidos, a Lei da Água Potável Segura (SDWA)⁵², sob
2 regulamentação da EPA, define limites máximos de contaminação de 10 µg L⁻¹ para
3 o diuron e 40 µg L⁻¹ para o carbofurano⁵². Essas regulamentações ajudam a garantir
4 que os níveis de pesticidas na água permaneçam seguros, exigindo monitoramento e
5 tratamento eficazes.

7 **2.3. Preparo de Amostra**

8 A etapa de preparo de amostra é essencial e determinante num procedimento
9 analítico, sendo também a etapa que consome mais tempo em um laboratório,
10 principalmente quando os analitos estão presentes em níveis traço em matrizes
11 complexas⁵³. Essa etapa é dependente das características da matriz e do analito,
12 passando por otimizações, para que haja a garantia de uma análise química precisa
13 e apropriada^{54,55}. Entre as principais funções dessa etapa, compreendem-se a pré-
14 concentração dos analitos e a diminuição dos interferentes da matriz^{1,47}. Desse modo,
15 evita-se que os interferentes afetem a identificação e quantificação dos compostos de
16 interesse¹. Assim, ocorre a extração dos mesmos a partir da matriz da amostra, e a
17 transferência para uma solução adequada que é compatível com a instrumentação
18 analítica^{1,41,47,53}.

19 Os métodos tradicionais de preparo de amostra (as chamadas técnicas
20 clássicas), embora ainda muito utilizados em laboratórios de análise, são trabalhosos
21 e exigem consumo elevado de energia e tempo^{53,56}. Também demandam volumes
22 consideráveis de solventes orgânicos, são de difícil automatização, apresentam alto
23 custo, utilizam solventes tóxicos, o que pode comprometer a integridade do analista,
24 e geram uma grande quantidade de resíduos^{1,53}. Entre essas técnicas, podem-se
25 destacar a extração líquido-líquido (LLE, do inglês *Liquid-Liquid Extraction*), a extração
26 em fase sólida (SPE, do inglês *Solid Phase Extraction*) e a extração sólido-líquido
27 (SLE, do inglês *Solid-Liquid Extraction*).

28 Como alternativa aos problemas e desvantagens das técnicas clássicas,
29 surgiram as técnicas miniaturizadas. Inicialmente com Janusz Pawliszyn, em 1990,
30 com a proposta da microextração em fase sólida (SPME, do inglês *Solid Phase*
31 *Microextraction*), técnica pioneira na microextração e precursora para o
32 desenvolvimento de outras técnicas miniaturizadas, e a partir de então, houve uma
33 crescente utilização dessas técnicas modernas devido suas vantagens^{1,53,57,58}.

2.3.1. Extração em Ponteira Dispersiva

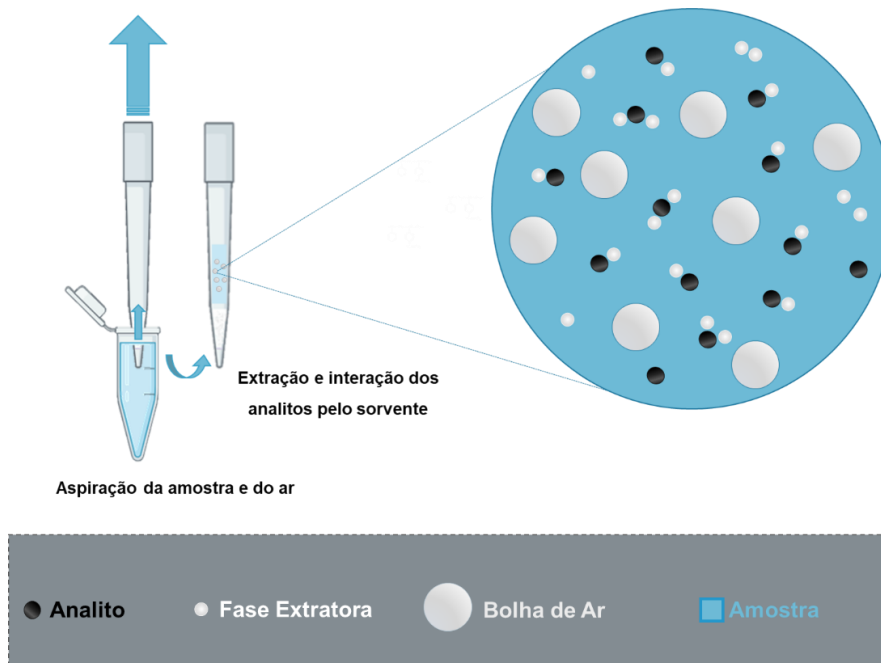
A extração em ponteira dispersiva (DPX), inicialmente e ainda atualmente chamada também de extração em ponteira descartável, foi desenvolvida em 2003 por Willian Brewer como uma modificação da técnica convencional de SPE enquanto trabalhava como toxicologista forense^{47,59}.

No dispositivo da DPX, utiliza-se uma ponteira de micropipeta, de 1 ou 5 mL, contendo em seu interior uma certa quantidade de fase extratora aprisionada e não compactada entre dois filtros⁵⁹. O filtro inferior é fixo, proporcionando uma barreira permeável para a passagem dos fluídos na aspiração e dispersão da amostra^{59,60}. O filtro superior tem a finalidade de prevenir contaminação impedindo a passagem de materiais para o interior da pipeta^{59,60}. Entretanto, este filtro superior pode ser removido se necessário^{59,60}. O princípio de funcionamento da técnica baseia-se no equilíbrio de sorção entre a amostra e o sorvente, pois a extração ocorre de acordo com a afinidade e interação entre os analitos com a fase extratora⁶¹⁻⁶³. Na dessorção ocorre a quebra dessas interações com o sorvente, fazendo com que os analitos sejam removidos da fase extratora e interajam com o solvente orgânico, tornando-se parte da solução^{59,61,64}.

No processo de extração, ocorrem as seguintes etapas: condicionamento das ponteiras, com o objetivo de ativar os sítios do sorvente e preparar a fase extratora para ficar com condição mais similar à amostra; aspiração da amostra e posteriormente de ar, com o objetivo de permitir uma mistura dinâmica entre a fase extratora e a amostra; o descarte da amostra; a aspiração do solvente de dessorção juntamente com ar, para promover a quebra das interações da fase extratora com os analitos, transferindo-os ao solvente; e descarte em um frasco, onde os analitos estarão armazenados para posterior análise cromatográfica^{47,59,64}.

A aspiração do ar no processo de extração promove a formação de bolhas, permitindo uma mistura dinâmica entre a amostra e a fase extratora⁵⁹. Desse modo, a extração ocorre de forma mais rápida e efetiva pelo equilíbrio de sorção entre o sorvente e a amostra^{47,59}. A Figura 1 demonstra como o processo ocorre.

1 **Figura 1:** Aspiração da amostra juntamente ao ar para a interação dos analitos com
 2 o sorvente.



3

4

Fonte: Autoria Própria (2024).

5

6 No procedimento de DPX, alguns parâmetros devem ser otimizados nas etapas
 7 em busca de um resultado mais confiável, reproduzível e correto⁵⁹. Entre as condições
 8 a serem otimizadas pela técnica, os principais e que serão abordados no presente
 9 trabalho são: o solvente de dessorção; o número de ciclos de extração e dessorção;
 10 o pH da amostra; o efeito *salting-out*; e o número de ciclos de limpeza das ponteiros⁵⁹.
 11 Essa última etapa tem como objetivo reduzir ou eliminar o efeito memória, permitindo
 12 a reutilização das ponteiros de DPX. Isso contribui para a redução de resíduos e segue
 13 os princípios da GAC, garantindo que não haja interferência de analitos extraídos em
 14 etapas anteriores^{59,65-68}.

15 A técnica de DPX apresenta diversas vantagens, pois é uma técnica simples e
 16 de fácil execução, eficiente, rápida, utiliza pequenas quantidades de solvente e
 17 amostra, e pouca quantidade em massa de material sorvente^{47,59,60,69}. Além disso,
 18 apresentam baixo custo, boas recuperações, alta frequência analítica e possibilidade
 19 de automatização, vantagens que estão de acordo com os princípios da GAC^{47,60,69,70}.

20

21

1 **2.4. Automatização na Química Analítica**

2 A Química Analítica, por lidar com diversos instrumentos de análise, se
3 beneficia grandemente com os avanços tecnológicos computacionais e eletrônicos,
4 tanto da academia quanto da indústria^{68,71}. O uso de equipamentos mecanizados e
5 automatizados na análise química oferece várias vantagens, como o aumento da
6 frequência analítica, maior reprodutibilidade, redução de erros, economia de tempo,
7 redução de resíduos gerados e reagentes consumidos, de acordo ao sétimo princípio
8 da GAC^{67,70,72,73}. Além disso, ajuda a evitar tarefas tediosas e preserva a integridade
9 do analista, sendo mais seguro, atendendo também ao décimo segundo princípio da
10 GAC, pois reduz a exposição a reagentes e solventes, diminuindo o risco à saúde do
11 analista^{67,70-72}.

12 Este trabalho, portanto, visa a utilização do dispositivo automatizado Au-Pa-
13 DPX desenvolvido por Ricardo Dagnoni Huelsmann^{68,71}, membro do grupo de
14 pesquisa, para a realização do preparo de amostras na extração de diversos
15 contaminantes orgânicos de diferentes classes. A aplicação deste sistema promete
16 não apenas aumentar a eficiência e a segurança do processo, mas também contribuir
17 para a sustentabilidade das práticas analíticas, alinhando-se aos princípios da GAC e
18 às necessidades contemporâneas de monitoramento ambiental.

1 3. OBJETIVOS

2

3 3.1. Objetivo Geral

4 Este trabalho teve como objetivo desenvolver uma metodologia para a
5 determinação de nove analitos classificados como contaminantes em amostras de
6 água, utilizando o método Au-Pa-DPX, com posterior quantificação por HPLC-DAD.

7

8 3.2. Objetivos Específicos

- 9 • Realizar a otimização dos parâmetros da técnica de DPX, sendo eles: solvente de
10 dessorção, ciclos de dessorção e extração, ciclos de limpeza das ponteiros, pH e
11 efeito *salting-out*;
- 12
- 13 • Avaliar e determinar os parâmetros analíticos de mérito, tais como o limite de
14 detecção (LOD), limite de quantificação (LOQ), precisão intradia e interdia,
15 exatidão, e coeficiente de determinação (R^2);
- 16
- 17 • Aplicar o método em amostras reais;
- 18
- 19 • Avaliar a sustentabilidade do método através do software AGREEpRep.

4. METODOLOGIA

4.1. Materiais e Reagentes

A solução estoque utilizada foi composta por uma mistura dos padrões dos nove analitos (metilparabeno, etilparabeno, carbofurano, propilparabeno, diuron, naproxeno, 17 α -etinilestradiol, butilparabeno e indometacina) cuja concentração final foi de 50 mg L⁻¹, preparada em metanol. Os solventes utilizados foram: metanol (MeOH), acetonitrila (ACN) e etanol (EtOH), fornecidos pela Merck (Rio de Janeiro, BR), J.T. 8 Baker (Center Valley, EUA) e Merck (Rio de Janeiro, BR), respectivamente. Como fase extratora para a ponteira da DPX foi utilizado a fase reversa comercial (RP), de estireno-divinilbenzeno, com 20 mg para cada ponteira de DPX. A ponteira de DPX utilizada no trabalho possui volume de 5 mL. Para os ajustes de pH, foram utilizadas soluções de HCl e NaOH na concentração de 0,1 mol L⁻¹. A água ultrapura foi produzida pelo sistema de purificação Mega Purity (Billerica, MA, EUA), com resistividade de 18,3 M Ω cm.

Foi utilizada água ultrapura para a realização das curvas de calibração a solução dos analitos nas concentrações de 1, 5, 7,5, 10, 15, 20, 25, 50, 75, 100, 150, 200, 300 μ g L⁻¹.

4.1.1. Coleta das Amostras

As amostras de água foram coletadas em Florianópolis (Santa Catarina, Brasil), nos seguintes locais e coordenadas: (1) -27.610779, -48.506376: água de um rio próximo à cachoeira, na Trilha do Poção, no Córrego Grande, parte de uma reserva ambiental; (2) -27.5985691, -48.5235298: amostra de água de torneira coletada em um laboratório da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC); (3) -27.598143, -48.522863: água do córrego próximo ao Centro de Ciências Jurídicas da UFSC; (4) -27.600089, -48.522587: água do córrego abaixo da ponte próxima ao Espaço Físico Integrado (EFI) da UFSC; (5) -27.589112, -48.503357: água do Rio Itacorubi, no bairro Santa Mônica; (6) -27.606194, -48.520131: água do córrego atrás do Restaurante Universitário, perto das Quadras de Esporte e Piscinas da UFSC; (7) -27.590034, -48.515841: água do córrego em frente ao Shopping Villa Romana. Todas as amostras foram coletadas em frascos âmbar, em apenas um ponto de cada local, e armazenadas na geladeira após ajuste de pH para 8, sem necessidade de filtração.

1 **Figura 2:** Mapa de coleta das amostras.

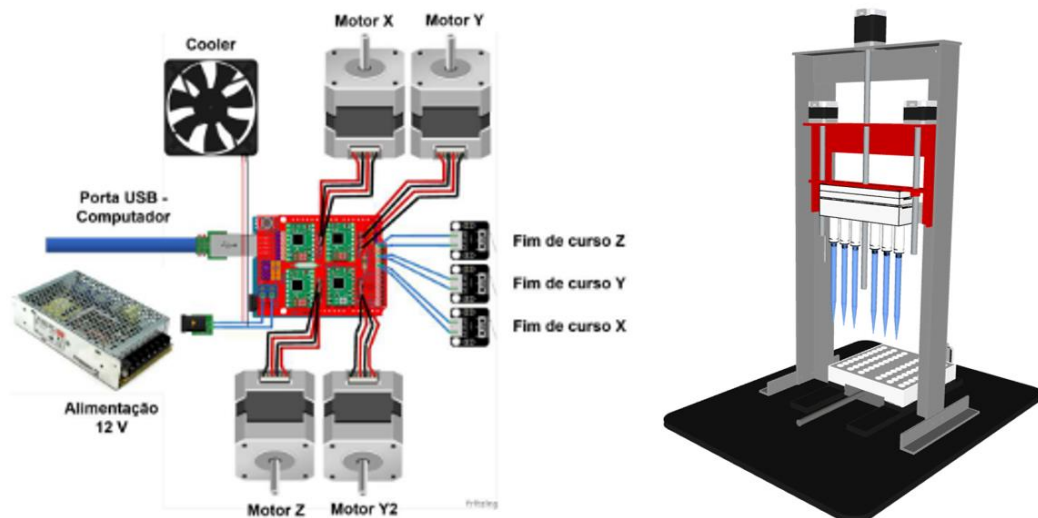


2
3 **Fonte:** Google Maps (2024).

4
5 **4.2. Instrumentação**

6 Para o preparo de amostras e também as respectivas otimizações através da
7 técnica de DPX, foi utilizado um dispositivo automatizado (Au-Pa-DPX), conectado a
8 um monitor, de forma a passar informações através do código (escrito em linguagem
9 C++) para o equipamento, controlado por Arduino.

10
11 **Figura 3:** Dispositivo automatizado (Au-Pa-DPX) utilizado no trabalho.



12
13 **Fonte:** Huelsmann, Ricardo Dagnoni (2023)⁷¹.

1 Para a quantificação dos analitos, foi utilizado um cromatógrafo líquido LC 20AT
2 (fabricado pela Shimadzu, Kyoto, Japão) com detector de arranjo de diodos (modelo
3 SPD-M20A Series), com injetor manual Rheodyne 7725i (Rohnert Park, CA, EUA) cujo
4 loop de injeção é de 20 µL.

5 A separação cromatográfica utilizada foi feita em fase reversa através da
6 utilização de uma coluna cromatográfica com as seguintes especificações:
7 Phenomenex Hyperclone C18 (250 mm x 4,6 mm i.d. x 5,0 µm, Torrance, CA, EUA).

8 Os compostos de interesse foram monitorados em 6 diferentes comprimentos
9 de onda: 230, 240, 250, 255, 275 e 280 nm, conforme a Tabela 2. Os comprimentos
10 de onda foram escolhidos com base em dois critérios principais. O primeiro foi
11 maximizar a absorção dos analitos, selecionando os λ máximos, onde os analitos
12 apresentam a maior absorção, o que garante uma detecção sensível. O segundo
13 critério foi evitar interferentes, optando por comprimentos de onda nos quais não há
14 sobreposição de picos que poderiam comprometer a precisão da análise.

15
16 **Tabela 2:** Monitoramento dos analitos por HPLC-DAD.

Analitos	Tempo de Retenção (min)	Comprimento de Onda (nm)
Metilparabeno	4,78	255
Etilparabeno	6,46	255
Carbofurano	7,58	275
Propilparabeno	9,72	255
Diuron	10,94	250
Naproxeno	11,94	230
17 α -Ethinilestradiol	13,85	280
Butilparabeno	14,56	255
Indometacina	19,20	240

17 **Fonte:** Autoria Própria (2024).
18
19
20

1 Como fase móvel, foi utilizado o modo gradiente, com os solventes ACN (A) e
2 água acidificada (B), preparada com 99,9% de água ultrapura e 0,1% de ácido fórmico,
3 com um fluxo cromatográfico de 1,0 mL min⁻¹. O método utilizado no programa de
4 eluição está apresentado na Tabela 3.

5
6 **Tabela 3:** Programa de eluição por gradiente.

Tempo (min)	% ACN	% Água Acidificada
0,01 - 5	40	60
5 - 20	40 → 65	60 → 35

7 **Fonte:** Autoria Própria (2024).

8 9 **4.3. Otimização dos Parâmetros da DPX**

10 **4.3.1. Otimização do Solvente de Dessorção**

11 A avaliação do solvente de dessorção foi realizada através de um planejamento
12 multivariado simplex-centróide, em que o software Statsoft Statistica® foi utilizado, na
13 qual os solventes ACN, MeOH e EtOH foram avaliados. Foi avaliada a eficácia desses
14 solventes, em suas formas puras e em misturas binárias e ternárias, realizando-se
15 uma triplicata do ponto central, ponto em que os solventes estão na mesma proporção,
16 conforme a Tabela 4. Para cada ciclo de extração, foram utilizados 1,5 mL da solução
17 contendo a mistura dos analitos, preparada em uma concentração de 300 µg L⁻¹. Para
18 a etapa de dessorção, os poços foram preenchidos com 200 µL dos solventes.

19 No software Statsoft Statistica®, a média geométrica das áreas dos picos
20 cromatográficos dos analitos em cada experimento foi utilizada como resposta para a
21 criação da superfície de resposta, por meio da plotagem dos dados e análise
22 estatística ANOVA. A partir disso, foi selecionado o solvente com melhor resposta
23 para posterior utilização nos experimentos seguintes.

24
25
26
27
28
29
30

1 **Tabela 4:** Planejamento simplex-centróide usado na otimização do solvente de
 2 dessorção.

Experimento	ACN	MeOH	EtOH
1	100%	0	0
2	0	100%	0
3	0	0	100%
4	50%	50%	0
5	50%	0	50%
6	0	50%	50%
7, 8 e 9	33,3%	33,3%	33,3%
10	66%	17%	17%
11	17%	66%	17%
12	17%	17%	66%

3 **Fonte:** Autoria Própria (2024).

4

5 **4.3.2. Otimização dos Ciclos de Dessorção**

6 Para a otimização do número de ciclos de dessorção, os experimentos foram
 7 realizados em triplicata, variando de 1 a 7 ciclos de dessorção, com o objetivo de
 8 selecionar a menor quantidade de ciclos que proporcionasse a maior resposta dos
 9 analitos, comprovando a eficiência do solvente de dessorção.

10 Foram utilizados 1,5 mL da solução estoque contendo a mistura dos analitos
 11 em uma concentração de 300 $\mu\text{g L}^{-1}$ para cada extração, enquanto os poços de
 12 dessorção foram preenchidos com 200 μL do solvente para dessorção.

13 No software Microsoft Excel®, os dados das análises dos ciclos foram
 14 processados com base na média geométrica das áreas dos picos cromatográficos dos
 15 analitos, sendo submetidos à análise estatística ANOVA e ao teste de Tukey. Em
 16 seguida, foi elaborado um gráfico de barras em Python para facilitar a visualização
 17 dos resultados.

18

19 **4.3.3. Otimização dos Ciclos de Limpeza das Ponteiras**

20 A etapa de otimização da limpeza das ponteiras visa evitar o efeito memória,
 21 que pode interferir nos resultados das análises. Como as ponteiras foram reutilizadas,
 22 foi proposto um estudo das lavagens com o solvente de dessorção para eliminar os

1 analitos da fase extratora. A quantidade de ciclos de limpeza foi avaliada com 1, 2, 3,
2 4, 5, 6 e 10 ciclos, buscando não ter sinal dos analitos para garantir a limpeza
3 completa. Cada ciclo de limpeza utiliza uma nova alíquota do solvente de dessorção
4 para garantir que o analito não estará interagindo novamente com a fase extratora.

6 **4.3.4. Otimização do pH**

7 Devido a presença de grupos funcionais nas estruturas químicas dos analitos
8 foi realizado um estudo de otimização do pH em busca de uma maior resposta na
9 análise. A mistura dos analitos foi adicionada em diferentes condições de pH, tais
10 como 2, 4, 6, 8 e 10. Os experimentos foram realizados em triplicata para análise e
11 seleção da melhor condição com auxílio do Microsoft Excel[®] e Python. Os resultados
12 foram submetidos à análise estatística ANOVA e ao teste de Tukey.

14 **4.3.5. Otimização dos Ciclos de Extração e do Efeito *Salting-Out***

15 Para otimizar os ciclos de extração e o efeito *salting-out*, foi realizado um
16 planejamento multivariado Doehlert, com o objetivo de avaliar a influência dos ciclos
17 de extração e do efeito *salting-out* simultaneamente. Nove experimentos foram
18 realizados, variando o número de ciclos de extração (1, 3, 5, 7 e 9) e a porcentagem
19 de sal (0, 7,5% e 15%). O sal utilizado para o estudo do efeito *salting-out* foi o cloreto
20 de sódio (NaCl). As médias geométricas das áreas dos picos cromatográficos foram
21 usadas para construir a superfície de resposta e selecionar a condição ideal.

23 **Tabela 5:** Planejamento Doehlert utilizado na otimização dos ciclos de extração e
24 efeito *salting-out*.

Experimento	Ciclos de Extração	Sal
1	1	7,50%
2	3	0
3	3	15%
4, 5 e 6	5	7,50%
7	7	0
8	7	15%
9	9	7,50%

Fonte: Autoria Própria (2024).

1 **4.4. Parâmetros Analíticos de Mérito**

2 Foram construídas curvas de calibração para cada analito em 8 níveis de
3 concentração, realizadas em triplicata com água ultrapura. A partir dessas curvas,
4 foram obtidos os parâmetros analíticos de mérito, incluindo o LOQ, o LOD, a faixa
5 linear de trabalho, o coeficiente de determinação (R^2), além da precisão e exatidão.

6 A precisão do método foi avaliada de duas formas: intradia, com valores do
7 desvio padrão relativo em triplicata no mesmo dia (n=3), e interdia, com aplicação do
8 método em três dias consecutivos (n=9), comparando três níveis de concentração. A
9 exatidão foi verificada por ensaios de recuperação relativa com amostras de água da
10 torneira e de um rio de referência, fortificadas com três níveis de concentração dentro
11 da faixa linear de trabalho.

12

13 **4.5. Segurança no Laboratório e Tratamento dos Resíduos Gerados**

14 Todas as medidas de segurança necessárias foram tomadas durante a
15 realização dos experimentos. Foi adotado o uso de jaleco de algodão, calça jeans,
16 sapato fechado, luvas e óculos, além do uso da capela quando necessário, para
17 preservar não apenas a segurança do laboratorista, mas também aos membros do
18 laboratório e ao ambiente de trabalho no geral.

19 Quanto aos resíduos gerados, tanto durante o preparo de amostras quando na
20 quantificação e análise no HPLC, estes foram armazenados e encaminhados para a
21 empresa responsável pelo tratamento de resíduos da Universidade Federal de Santa
22 Catarina.

23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34

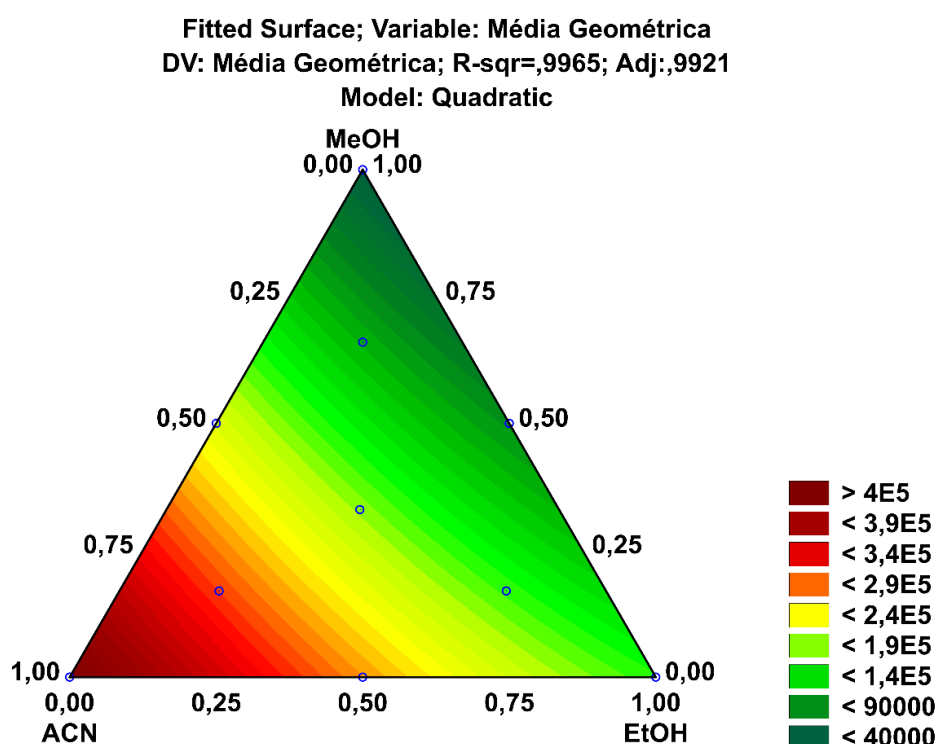
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Otimizações dos Parâmetros da DPX

5.1.1. Otimização do Solvente de Dessorção

A seleção do solvente de dessorção foi a primeira etapa avaliada, utilizando um planejamento simplex-centróide com pontos centrais em triplicata para EtOH, MeOH e ACN. Esta etapa de otimização é essencial para garantir a completa dessorção dos analitos da fase extratora, além de evitar o efeito memória. Os experimentos envolveram 7 ciclos de extração com novas alíquotas de 1,5 mL da amostra para cada ciclo e 7 ciclos de dessorção utilizando a mesma alíquota do solvente de dessorção. Com base nos resultados dos 12 experimentos, foi construído uma superfície de resposta usando o modelo quadrático, com a média geométrica das áreas dos picos cromatográficos dos analitos de cada experimento, conforme mostrado na Figura 4. À medida que a proporção de ACN aumentava, a eficiência do solvente de dessorção também aumentava. A superfície de resposta ($R^2 = 0,996$) mostra uma região máxima em 100% de ACN. Testes estatísticos podem ser encontrados no Apêndice A.

Figura 4: Superfície de resposta da otimização do solvente de dessorção ($R^2=0,996$).



Fonte: Autoria Própria (2024).

1 Com base nos resultados, a ACN foi selecionada como o solvente de dessorção
2 otimizado. A ACN tem a capacidade de romper eficientemente as interações entre os
3 analitos e a fase extratora⁷⁴. Sua polaridade moderada permite interações com
4 analitos polares e apolares, facilitando a dessorção dos compostos. Além disso, a fase
5 de extração utilizada, estireno-divinilbenzeno, é apolar e interage com os analitos
6 principalmente através de interações π - π e interações hidrofóbicas⁴⁷. A ACN interage
7 de forma mais forte com os analitos em comparação com os outros solventes testados,
8 sua polaridade se alinha de forma mais próxima com a da fase extratora, resultando
9 em uma interação mais forte com o solvente em comparação com os outros solventes,
10 melhorando a eficiência do processo de extração e garantindo compatibilidade com a
11 instrumentação analítica^{1,74}.

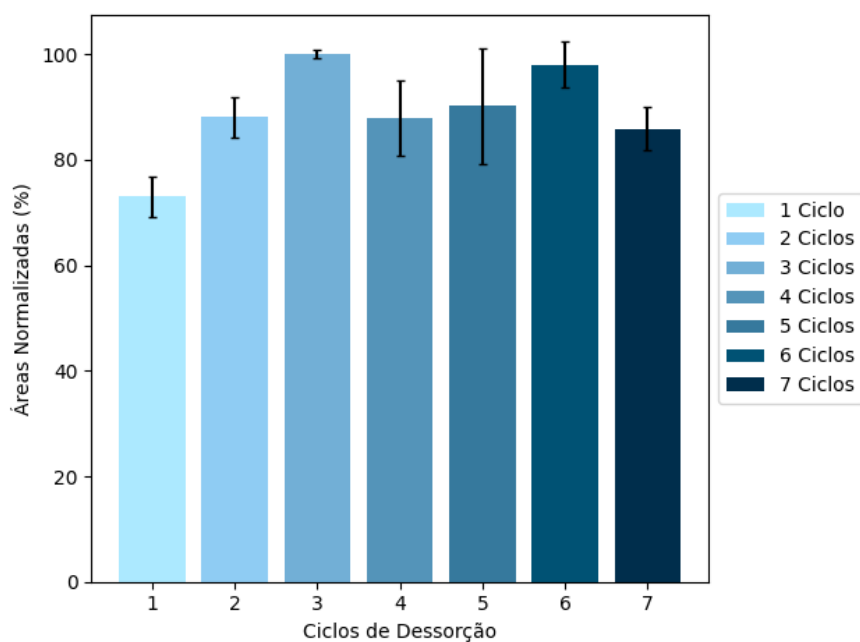
12

13 **5.1.2. Otimização dos Ciclos de Dessorção**

14 A otimização do número de ciclos de dessorção foi realizada utilizando um
15 planejamento univariado. As respostas de 1 a 7 ciclos de dessorção foram avaliadas.
16 A Figura 5 compara os valores obtidos nos experimentos conduzidos em triplicata para
17 as áreas dos picos normalizadas em cada número de ciclos de dessorção.

18

19 **Figura 5:** Comparação das respostas obtidas entre os números de ciclos de
20 dessorção.



21

22

Fonte: Autoria Própria (2024).

1 Com base nos resultados obtidos, a condição escolhida foi 3 ciclos de
2 dessorção, pois apresentou a maior resposta. De acordo com o teste estatístico
3 ANOVA, pode-se perceber que há diferença significativa entre as médias para um
4 intervalo de 95% de confiança, o que é observado através do $F_{\text{calculado}} (8,836) > F_{\text{crítico}}$
5 $(2,848)$. Mais informações a respeito dos testes estatísticos podem ser encontradas
6 no Apêndice B. Observa-se que o número ideal de ciclos tende a ser múltiplo de 3, o
7 que indica que, além desse ponto, os analitos podem voltar a interagir com a fase
8 extratora. Assim, três ciclos de dessorção foram selecionados como uma condição
9 compromisso e para garantir uma maior frequência analítica.

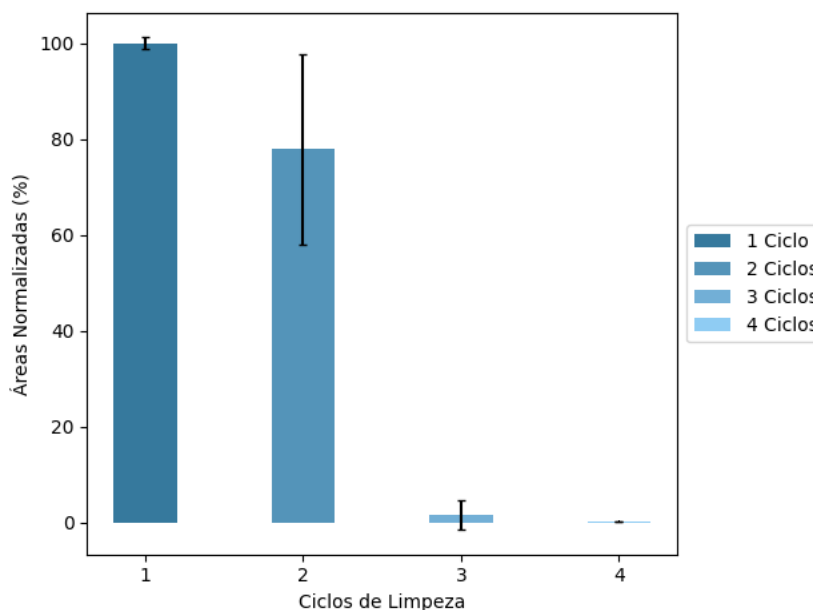
11 **5.1.3. Otimização dos Ciclos de Limpeza das Ponteiras**

12 Uma etapa de limpeza foi planejada para determinar o número de ciclos
13 necessários para prevenir o efeito memória das extrações anteriores e garantir a
14 reutilização das ponteiras, alinhando-se com outro princípio da GAC⁶⁶⁻⁶⁸. Os ciclos de
15 limpeza variaram de 1 a 10, utilizando ACN como solvente de limpeza. Cada novo
16 ciclo utilizou 200 μL de ACN.

17 As alíquotas foram analisadas utilizando HPLC-DAD para avaliar a redução na
18 resposta. A média geométrica das áreas dos picos cromatográficos dos analitos foi
19 calculada, e os resultados são apresentados na Figura 6. Observou-se uma
20 diminuição significativa nas áreas dos picos após o terceiro ciclo de limpeza, e após
21 quatro ciclos, a fase extratora estava limpa. Assim, 4 ciclos de limpeza foram utilizados
22 nos procedimentos subsequentes. É importante destacar que a limpeza das ponteiras
23 foi realizada imediatamente após o procedimento de extração para evitar que os
24 analitos ficassem impregnados na fase extratora.

25 A fase extratora de estireno-divinilbenzeno utilizada neste estudo já havia sido
26 empregada em um trabalho anterior⁶⁸ e apresentou excelente desempenho. No
27 presente trabalho, a mesma fase extratora presente nas ponteiras foi reutilizada
28 diversas vezes (15 vezes a mesma ponteira) após as limpezas, sem perda de
29 eficiência. Isso demonstra a durabilidade da fase extratora, bem como sua viabilidade
30 para reutilização, contribuindo para a sustentabilidade do método.

1 **Figura 6:** Comparação das respostas obtidas entre os números de ciclos de limpeza
2 das ponteiras.



3
4 **Fonte:** Autoria Própria (2024).
5

6 **5.1.4. Otimização do pH**

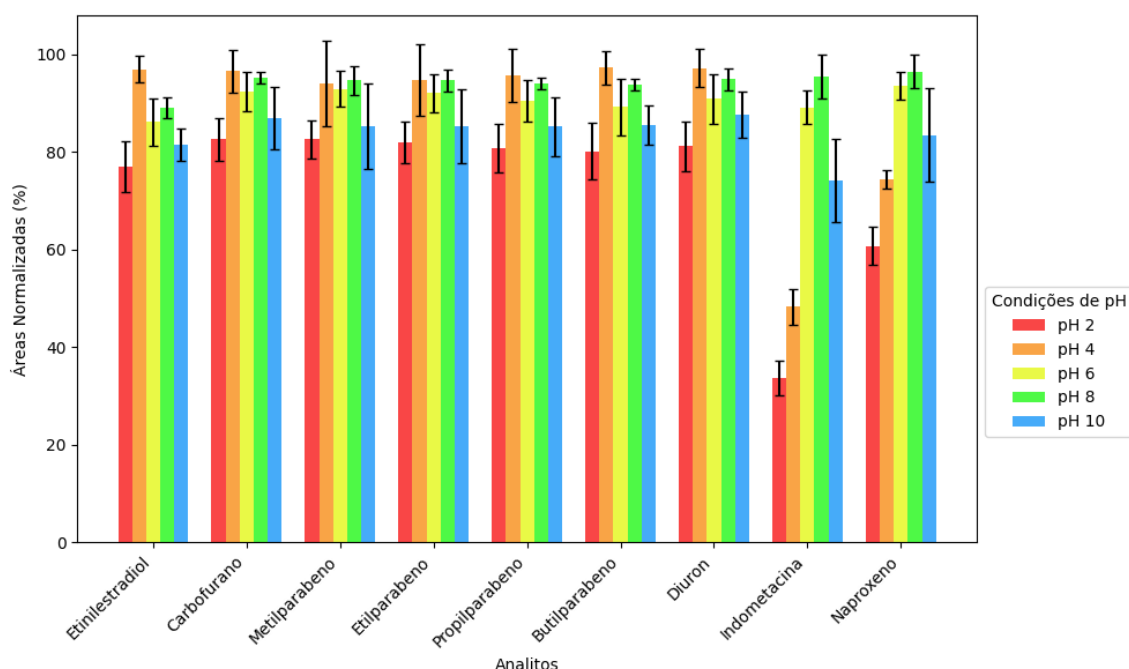
7 Um planejamento de otimização de pH foi implementado devido à presença de
8 grupos ionizáveis nos analitos. A condição ideal de pH está intimamente relacionada
9 às estruturas químicas e aos valores de pKa dos analitos¹. Portanto, experimentos
10 univariados foram conduzidos em valores de pH de 2, 4, 6, 8 e 10.

11 Em pH 8, a maioria dos analitos (exceto a indometacina e o naproxeno) estarão
12 neutros, enquanto os fármacos estarão na forma desprotonada. Na realização da
13 ANOVA, foi observado que para a média geométrica $F_{\text{calculado}} (12,887) > F_{\text{crítico}} (3,478)$
14 há diferença significativa dos pHs em um intervalo de confiança de 95%. Quando
15 observado o teste de Tukey, é possível concluir que apenas o pH 2 difere
16 significativamente dos outros grupos de pH, enquanto que os pHs 4, 6, 8 e 10 são
17 estatisticamente semelhantes. Quando observado para a indometacina $F_{\text{calculado}}$
18 $(80,68) > F_{\text{crítico}} (3,478)$ e para o naproxeno $F_{\text{calculado}} (24,32) > F_{\text{crítico}} (3,478)$ observa-
19 se diferença significativa das médias em um intervalo de confiança de 95%. As
20 extrações em pH 8 para a indometacina e para o naproxeno foram significativamente
21 melhores quando comparados às extrações em pH 4, condição em que esses analitos
22 estariam na forma protonada, e conseqüentemente, não ionizada, o que pode ser
23 verificado através do teste de Tukey para estes analitos. Embora fosse esperado que

1 eles interagissem melhor com a fase extratora quando neutros, também ocorrem
 2 interações π - π em suas formas ionizadas, o que faz com que a extração deles seja
 3 favorecida. Para os outros analitos, não há diferença significativa quando comparados
 4 em pH 4 e pH 8, mesmo que para alguns a extração máxima tenha ocorrido em pH 4.
 5 Mais informações dos testes estatísticos podem ser encontradas no Apêndice C. Os
 6 resultados individuais estão apresentados na Figura 7.

7

8 **Figura 7:** Comparação das respostas obtidas individualmente para cada analito em
 9 diferentes pHs.



10

11

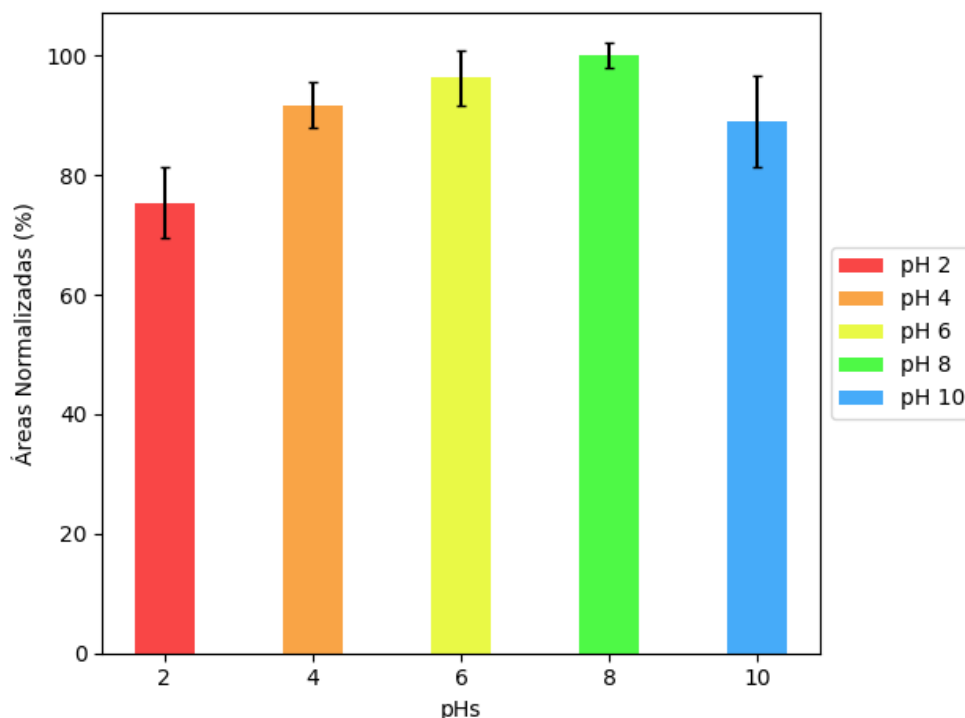
Fonte: Autoria Própria (2024).

12

13 Os resultados em termos da média geométrica das áreas dos picos
 14 cromatográficos dos analitos, apresentados na Figura 8, indicaram que o pH 8
 15 proporcionou uma condição equilibrada que melhorou a resposta geral para todos os
 16 analitos. Portanto, o pH 8 foi selecionado, pois ofereceu uma condição compromisso
 17 que otimizou o desempenho para todos os analitos.

18

1 **Figura 8:** Comparação das respostas obtidas com os diferentes pHs para a média
2 geométrica das áreas normalizadas dos analitos.



3
4
5

Fonte: Autoria Própria (2024).

6 **5.1.5. Otimização dos Ciclos de Extração e Efeito Salting-Out**

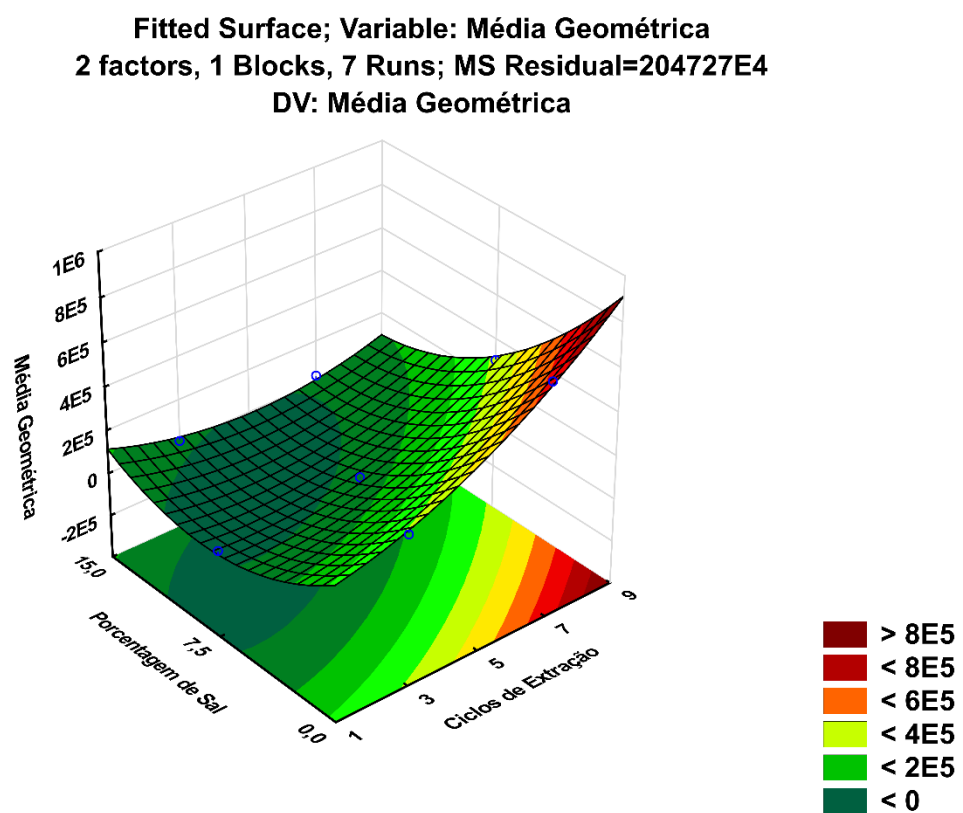
7 Um planejamento Doehlert multivariado foi realizado para avaliar
8 simultaneamente o número de ciclos de extração e o efeito *salting-out*. O uso de novas
9 amostras em cada ciclo de extração aumenta a disponibilidade de analitos para
10 interagir com a fase extratora⁵⁹. O efeito *salting-out* envolve a adição de sal à solução
11 para diminuir a solubilidade de compostos orgânicos na fase aquosa, promovendo
12 assim sua transferência para a fase extratora^{47,75}. Esse efeito é observado
13 principalmente em compostos de polaridade média a alta⁴⁷. Neste estudo, foram
14 avaliados 1, 3, 5, 7 e 9 ciclos de extração, juntamente com concentrações de sal
15 (NaCl) de 0, 7,5% e 15%.

16 A Figura 9 apresenta os resultados do planejamento Doehlert. Observou-se que
17 as respostas das áreas dos picos cromatográficos aumentaram com o número de
18 ciclos de extração, devido à introdução de uma nova alíquota de amostra em cada
19 ciclo. Além disso, foi notado que a eficiência de extração foi maior na ausência de sal
20 adicionado. Para a técnica de extração DPX, o aumento da concentração de sal

1 também pode aumentar a viscosidade da amostra, o que pode dificultar o processo
 2 de dispersão, resultando em uma eficiência de extração menor em comparação com
 3 a não adição de sal⁷⁶. Testes estatísticos podem ser verificados no Apêndice D. No
 4 presente trabalho, 9 ciclos de extração foram selecionados, juntamente com a não
 5 adição de sal.

6

7 **Figura 9:** Planejamento Doehlert para o número de ciclos de extração e a
 8 porcentagem de sal.



12 **Fonte:** Autoria Própria (2024).

13 **5.2. Preparo da Amostra**

14 Antes do procedimento de extração, o pH da amostra de água foi ajustado para
 15 8,0 utilizando soluções de HCl e NaOH na concentração de 0,1 mol L⁻¹. Em seguida,
 16 a pipeta comercial DPX-RP de 5 mL foi condicionada utilizando 2 ciclos de
 17 aspiração/dispensação de uma solução de MeOH/ACN na proporção 1:1, seguidos
 18 por 1 ciclo de aspiração/dispensação de água ultrapura, com 500 µL para cada ciclo
 de condicionamento.

1 Para o procedimento de extração propriamente dito, foram realizados 9 ciclos
2 de aspiração/dispensação de 1,5 mL de amostra cada (totalizando 13,5 mL de
3 amostra processada). Após a extração, foram aplicados 3 ciclos de 200 µL de
4 acetonitrila (ACN) como solvente de dessorção, garantindo a transferência eficiente
5 dos analitos para o solvente. Posteriormente, 20 µL deste extrato foram injetados no
6 HPLC-DAD para a análise e quantificação dos compostos. Para assegurar a
7 reutilização da fase extratora DPX-RP, foi implementado um procedimento de limpeza.
8 Esse processo consistiu em 4 ciclos com 200 µL de ACN, utilizando novas alíquotas
9 a cada ciclo, visando eliminar quaisquer resíduos de analitos e garantir a integridade
10 e a eficiência da fase extratora para usos subsequentes.

12 **5.3. Parâmetros Analíticos de Mérito**

13 Após finalizar todos os procedimentos de otimização, foram obtidas curvas de
14 calibração em água ultrapura. Os parâmetros analíticos de mérito estão apresentados
15 na Tabela 6. Os coeficientes de determinação (R^2) obtidos foram todos superiores a
16 0,9984, indicando uma excelente correlação linear. O limite de quantificação (LOQ) foi
17 definido como o menor ponto da curva de calibração medido com precisão, ou seja,
18 com RSD < 20%. Já o limite de detecção (LOD) foi definido como o LOQ/3. Os LODs
19 alcançados foram de 0,33 µg L⁻¹ e 1,67 µg L⁻¹, e, de forma semelhante, os LOQs foram
20 de 1 µg L⁻¹ e 5 µg L⁻¹. A faixa linear de trabalho variou de 1 µg L⁻¹ a 300 µg L⁻¹ e de 5
21 µg L⁻¹ a 300 µg L⁻¹.

1

Tabela 6: Parâmetros analíticos de mérito.

Analito	LOD	LOQ	Faixa Linear de Trabalho	Equação Linear	R ²
	Concentração (µg L ⁻¹)				
EE2	1,67	5	5-300	$y = 222,74x + 44,30$	0,9984
CF	1,67	5	5-300	$y = 469,66x + 11,33$	0,9995
MP	0,303	1	1-300	$y = 4548,62x + 1587,37$	0,9988
EtP	0,303	1	1-300	$y = 2688,36x + 1048,66$	0,9995
PrP	0,303	1	1-300	$y = 4575,47x + 1778,54$	0,9992
BP	0,303	1	1-300	$y = 3432,03x + 1119,83$	0,9995
DIU	0,303	1	1-300	$y = 2217,59x + 394,16$	0,9998
IND	0,303	1	1-300	$y = 2521,75x + 76,50$	0,9996
NAP	0,303	1	1-300	$y = 23375,60x + 8114,29$	0,9997

2

Fonte: Autoria Própria (2024).

3

4 Os resultados de precisão intradia e interdia mostraram que o método é
5 adequado. Os resultados são apresentados na Tabela 7. A variação do desvio padrão
6 relativo (RSD) na precisão intradia (n = 3) foi de: 0,96% a 9,5% em 10,0 µg L⁻¹; de
7 1,62% a 5,92% em 150 µg L⁻¹; e de 4,68% a 6,41% em 300 µg L⁻¹. De acordo com a
8 AOAC⁷⁷, para 10 ppb (10,0 µg L⁻¹), os valores de RSD devem ser de no máximo 21%,
9 e para 100 ppb (100 µg L⁻¹), os valores de RSD devem ser de no máximo 15%.
10 Portanto, todos os valores obtidos para a precisão intradia são considerados
11 adequados segundo as diretrizes da AOAC⁷⁷.

12 Para a precisão interdia (n = 9), os valores de RSD variaram de: 6,85% a
13 13,93% em 10,0 µg L⁻¹; de 8,83% a 18,35% em 150 µg L⁻¹; e de 10,30% a 17,16% em
14 300 µg L⁻¹. Embora alguns resultados estejam acima da faixa aceitável na precisão
15 interdia, as diferenças entre os valores divergentes e os valores aceitáveis são
16 pequenas, de modo que podem ser considerados adequados, tornando o método
17 apropriado para uso.

18

19

20

1

Tabela 7: Precisão intradia e interdia.

Analito	Precisão Intradia (n = 3) em %			Precisão Interdia (n = 9) em %		
	Concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$)					
	10	150	300	10	150	300
EE2	7,19	5,92	5,67	13,93	8,83	13,02
CF	9,50	2,25	6,13	7,91	12,07	12,11
MP	0,96	1,72	5,95	7,71	13,25	12,45
EtP	3,39	1,62	5,72	7,39	11,58	12,10
PrP	3,03	2,08	5,90	7,34	10,08	11,54
BP	5,08	2,38	6,10	8,28	9,06	11,93
DIU	5,03	2,65	5,88	9,13	9,18	10,30
IND	3,11	3,44	6,41	6,85	11,64	10,83
NAP	3,77	3,87	4,68	8,49	18,35	17,16

2

Fonte: Autoria Própria (2024).

3

4 A exatidão foi avaliada por meio da recuperação relativa em três diferentes
5 concentrações e com duas fontes distintas de água: (1) -27.610779, -48.506376: água
6 de um rio próximo à cachoeira, na Trilha do Poção, no Córrego Grande, parte de uma
7 reserva ambiental; (2) -27.5985691, -48.5235298: amostra de água de torneira
8 coletada em um laboratório da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC). Os
9 resultados estão apresentados na Tabela 8. As recuperações relativas variaram de
10 89,88% a 125,56% para a amostra (1), e de 95,41% a 107,5% para a amostra (2). De
11 acordo com a AOAC⁷⁷, os valores aceitáveis para a faixa de concentração de 10 μg
12 L^{-1} variam de 60% a 115%, enquanto os valores para a concentração de 100 μg L^{-1}
13 variam de 80% a 110%. Embora alguns valores para 150 μg L^{-1} e 300 μg L^{-1} estejam
14 fora dessa faixa, eles ainda são suficientemente próximos e, portanto, podem ser
15 considerados adequados. Os valores de recuperação foram calculados por meio de
16 equações geradas pelas curvas de calibração, realizada em água ultrapura, o justifica
17 os valores acima do limite para a amostra de rio, que podem estar relacionados à
18 alguma interferência.

1

2

Tabela 8: Recuperações em água de rio e água de torneira.

Analito	Amostra (1) – Água de Rio			Amostra (2) – Água de Torneira		
	Concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$)					
	10	150	300	10	150	300
EE2	90,78 ($\pm 10,60$)	102,76 ($\pm 0,96$)	118,55 ($\pm 0,45$)	95,41 ($\pm 1,05$)	99,75 ($\pm 6,89$)	100,01 ($\pm 0,91$)
CF	90,61 ($\pm 7,76$)	100,92 ($\pm 5,76$)	113,08 ($\pm 2,59$)	100,91 ($\pm 1,25$)	97,64 ($\pm 8,32$)	103,20 ($\pm 3,83$)
MP	89,88 ($\pm 9,15$)	101,07 ($\pm 5,66$)	113,75 ($\pm 3,52$)	96,85 ($\pm 2,95$)	96,92 ($\pm 10,31$)	106,07 ($\pm 4,83$)
EtP	89,04 ($\pm 10,61$)	103,55 ($\pm 5,14$)	117,28 ($\pm 3,08$)	99,02 ($\pm 3,63$)	99,01 ($\pm 9,96$)	107,50 ($\pm 4,66$)
PrP	90,64 ($\pm 7,42$)	101,93 ($\pm 4,85$)	115,07 ($\pm 2,11$)	97,74 ($\pm 0,94$)	98,76 ($\pm 7,66$)	103,80 ($\pm 2,93$)
BP	91,79 ($\pm 9,58$)	102,54 ($\pm 4,82$)	115,41 ($\pm 0,93$)	95,71 ($\pm 2,69$)	101,53 ($\pm 5,52$)	102,26 ($\pm 3,48$)
DIU	93,33 ($\pm 13,46$)	100,64 ($\pm 5,33$)	112,28 ($\pm 0,84$)	98,46 ($\pm 5,14$)	97,98 ($\pm 7,13$)	95,44 ($\pm 0,90$)
IND	93,37 ($\pm 2,68$)	120,40 ($\pm 7,59$)	125,56 ($\pm 2,75$)	100,73 ($\pm 4,84$)	99,09 ($\pm 5,87$)	103,26 ($\pm 3,50$)
NAP	91,02 ($\pm 0,10$)	111,08 ($\pm 6,18$)	109,59 ($\pm 3,67$)	105,44 ($\pm 6,02$)	98,83 ($\pm 12,03$)	104,50 ($\pm 4,50$)

Fonte: Autoria Própria (2024).

3

4

5

6

7

8

9

1 O tempo de extração, o limite de quantificação (LOQ), o volume de amostra e
2 o volume total de solvente são comparados com outros métodos relatados na literatura
3 na Tabela 8. Os métodos foram comparados essencialmente com uma versão
4 envolvendo a técnica SPE clássica⁷⁸⁻⁸¹ e várias técnicas miniaturizadas^{1,47,82,83}.

5 Outros estudos relatam variações no LOQ entre 0,06 e 25 $\mu\text{g L}^{-1}$, enquanto o
6 método desenvolvido aqui alcançou 1 ou 5 $\mu\text{g L}^{-1}$. Técnicas que atingiram baixos
7 LOQs usaram equipamentos como MS ou MS/MS^{78,81,83}, que são mais sensíveis do
8 que o HPLC-DAD utilizado pelos autores. Além disso, apenas o estudo envolvendo
9 DPX conseguiu limites baixos usando um HPLC-DAD, entretanto, apenas os
10 pesticidas foram avaliados⁴⁷.

11 Em relação aos volumes utilizados, outros métodos empregam grandes
12 volumes de amostra (200, 250 ou 500 mL em SPE), e as técnicas miniaturizadas
13 usaram volumes ainda menores do que o método desenvolvido com Au-Pa-DPX.
14 Embora volumes ligeiramente maiores tenham sido utilizados em comparação com
15 outras técnicas, o método relatado aqui exigiu tempos de extração e análise mais
16 curtos, resultando em um total de 25,15 minutos por amostra (4,15 minutos por
17 amostra na etapa de preparo de amostra). A única técnica que apresentou melhor
18 resultado em termos de volume e tempo total foi a que utilizou DLLME^{1,82}, mas seus
19 LOQs foram mais altos (5 e 25 $\mu\text{g L}^{-1}$).

20 No geral, o Au-Pa-DPX se mostra uma alternativa às outras técnicas clássicas
21 ou mesmo miniaturizadas, com automatização, alta frequência analítica e segurança
22 para a saúde do analista como seus principais objetivos.

23 Para a Tabela 9 e posteriormente quando necessário, os analitos estarão
24 abreviados da seguinte forma: Metilparabeno (MP), Etilparabeno (EtP), Carbofurano
25 (CF), Propilparabeno (PrP), Diuron (DIU), Naproxeno (NAP), 17 α -Ethinilestradiol (EE2),
26 Butilparabeno (BuP) e Indometacina (IND).

27
28
29
30
31
32

1

Tabela 9: Tabela comparativa com outros trabalhos da literatura.

Técnica de Preparo de Amostra	Analitos	LOQ ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Instrumentação	Amostra/Volume de Solvente (mL)	Tempo de Extração por Amostra /Corrida Analítica/ Tempo Total (min)	Referência
Au-Pa-DPX	MP, EtP, PrP, BuP, CF, DIU, IND, NAP e EE2	1 e 5	HPLC-DAD	13,5 / 2,5	4,15 / 21 / 25,15	Este Trabalho
DPX	CF e DIU	0,06 e 0,18	HPLC-DAD	6,4 / 0,1	3,75 / 60 / 63,75	47
SPE	CF e DIU	1,6 e 1,1	LC-MS/MS	500 / 18,5	62,5 / 28 / 90,5	80
RDSE	MP, EtP, PrP, BuP, NAP e EE2	0,11 - 0,33	GC-MS	20 / 10	115 / 25 / 140	83
SPE	MP, EtP, PrP e BuP	0,012-0,024	LC-ESI-MS/MS	250 / 11	25 / 24 / 49	78
SPE	IND e NAP	0,02-0,01	LC-MS/MS	250 / 28	21 ^a / 10 / 31	81
DLLME	IND e NAP	25 e 5	HPLC-UV	1,5 / 0,165	3 / 8 / 11	82
DLLME-MIL	MP, EtP, DIU e EE2	5	HPLC-DAD	3 / 10,56	5 / 45 / 50	1
SPE	EE2	5	LC-MS/MS	200 / 26	10 ^b / 7,5 / 17,5	79

2 ^aO tempo de extração para o processo de SPE não foi especificado, apenas o tempo de pré-preparo da amostra foi fornecido.3 ^bSomente o tempo de secagem a vácuo do cartucho de SPE após a eluição da amostra foi especificado.

4

5

6

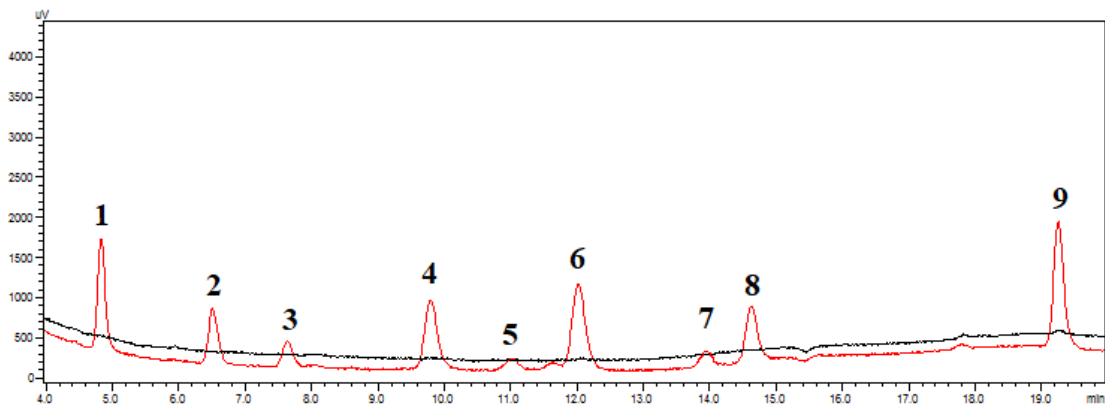
Fonte: Autoria Própria (2024).

1 5.4. Análises das Amostras

2 Após a determinação dos parâmetros analíticos, sete amostras de água foram
3 submetidas ao procedimento de extração proposto. Os cromatogramas das análises
4 e das amostras fortificadas estão apresentados nas Figuras 10-16. Para as próximas
5 Figuras, os analitos são: 1- Metilparabeno (MP), 2- Etilparabeno (EtP), 3- Carbofurano
6 (CF), 4- Propilparabeno (PrP), 5- Diuron (DIU), 6- Naproxeno (NAP), 7- 17 α -
7 Etinilestradiol (EE2), 8- Butilparabeno (BuP) e 9- Indometacina (IND). Os resultados
8 se encontram resumidos na Tabela 10.

9

10 **Figura 10:** Cromatogramas obtidos a 280 nm para a amostra branco (em preto,
11 amostra 1) e a amostra fortificada (em vermelho, fortificada a 10 $\mu\text{g L}^{-1}$), ambas
12 submetidas ao método de extração otimizado.



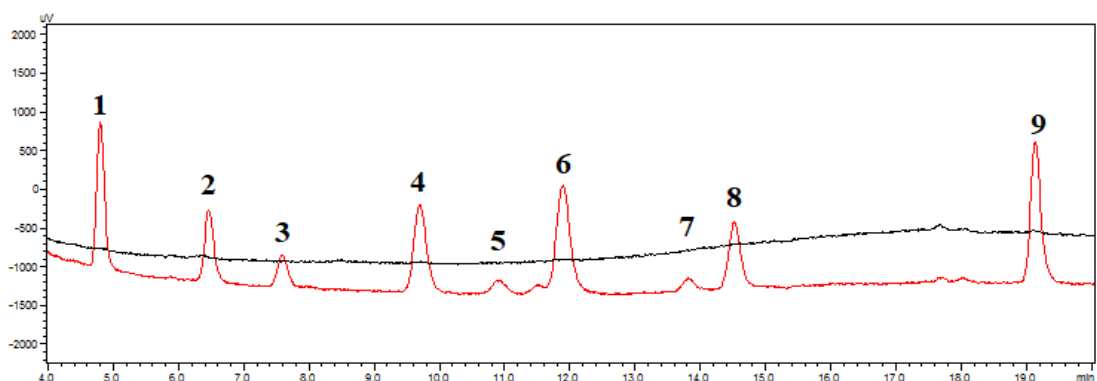
13

14

Fonte: Autoria Própria (2024).

15

16 **Figura 11:** Cromatogramas obtidos a 280 nm para a amostra branco (em preto,
17 amostra 2) e a amostra fortificada (em vermelho, fortificada a 10 $\mu\text{g L}^{-1}$), ambas
18 submetidas ao método de extração otimizado.

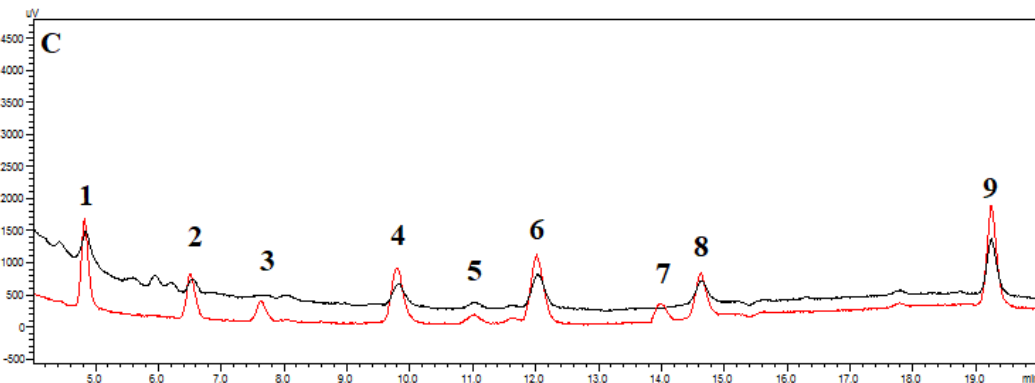
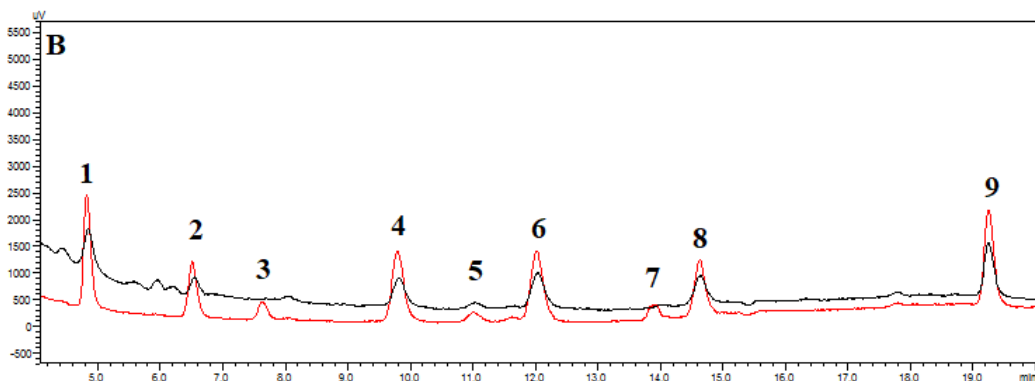
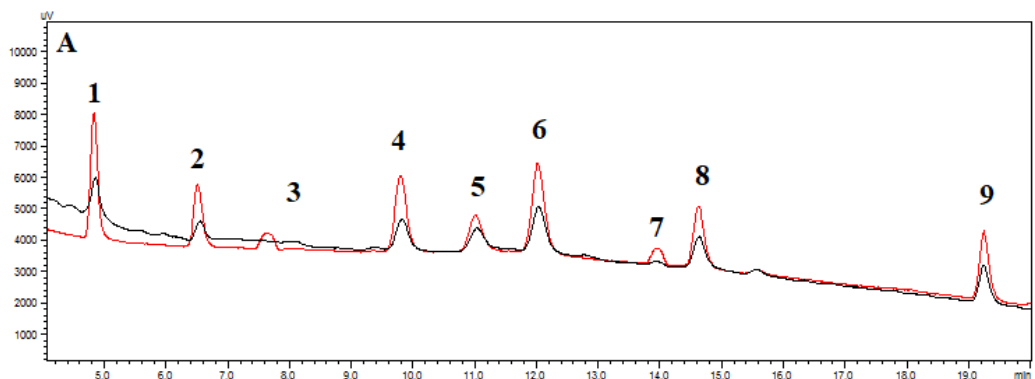


19

20

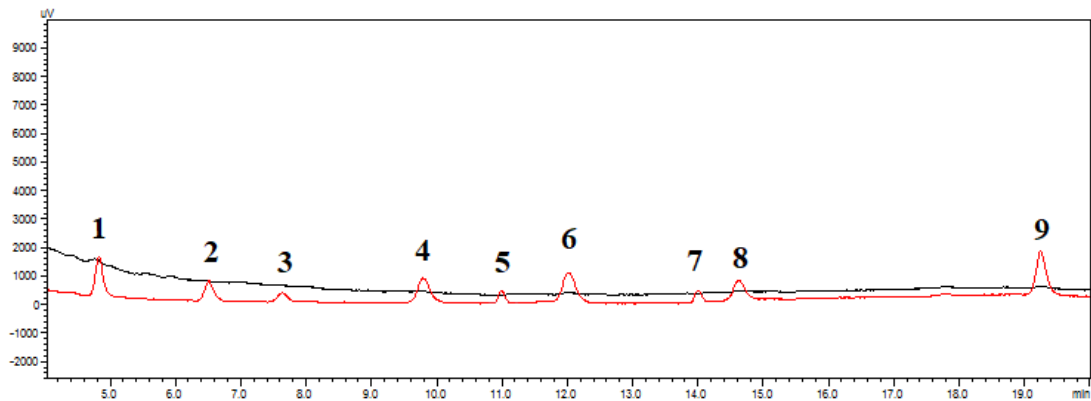
Fonte: Autoria Própria (2024).

1 **Figura 12: A-** Cromatogramas obtidos a 250 nm para a amostra branco (em preto, amostra 3) e a amostra fortificada (em vermelho, fortificada a $10 \mu\text{g L}^{-1}$), ambas submetidas ao método de extração otimizado. **B-** Cromatogramas obtidos a 275 nm para a amostra branco (em preto, amostra 3) e a amostra fortificada (em vermelho, fortificada a $10 \mu\text{g L}^{-1}$), ambas submetidas ao método de extração otimizado. **C-** Cromatogramas obtidos a 280 nm para a amostra branco (em preto, amostra 3) e a amostra fortificada (em vermelho, fortificada a $10 \mu\text{g L}^{-1}$), ambas submetidas ao método de extração otimizado.



Fonte: Autoria Própria (2024).

1 **Figura 13:** Cromatogramas obtidos a 280 nm para a amostra branco (em preto,
2 amostra 4) e a amostra fortificada (em vermelho, fortificada a $10 \mu\text{g L}^{-1}$), ambas
3 submetidas ao método de extração otimizado.



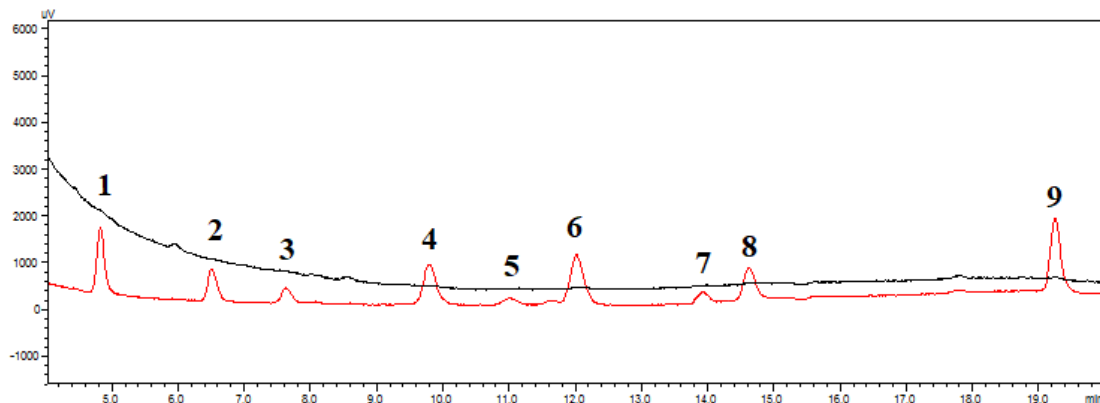
4

5

Fonte: Autoria Própria (2024).

6

7 **Figura 14:** Cromatogramas obtidos a 280 nm para a amostra branco (em preto,
8 amostra 5) e a amostra fortificada (em vermelho, fortificada a $10 \mu\text{g L}^{-1}$), ambas
9 submetidas ao método de extração otimizado.



10

11

12

13

14

15

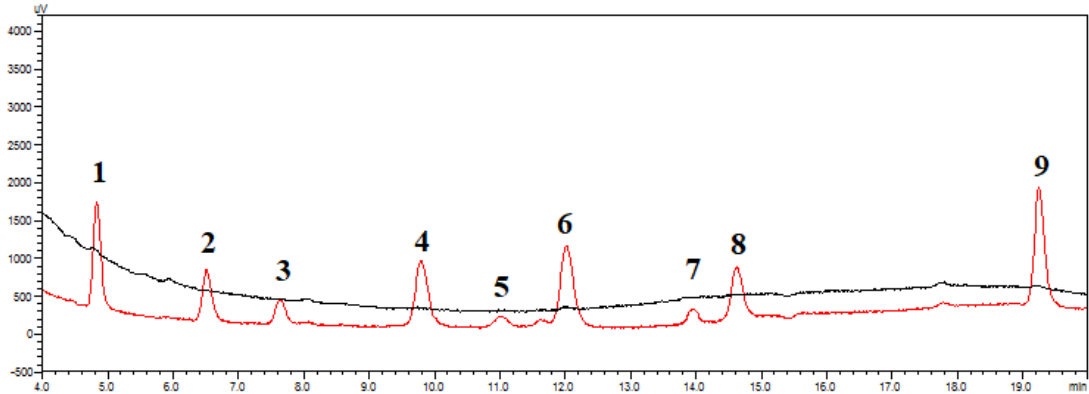
16

17

18

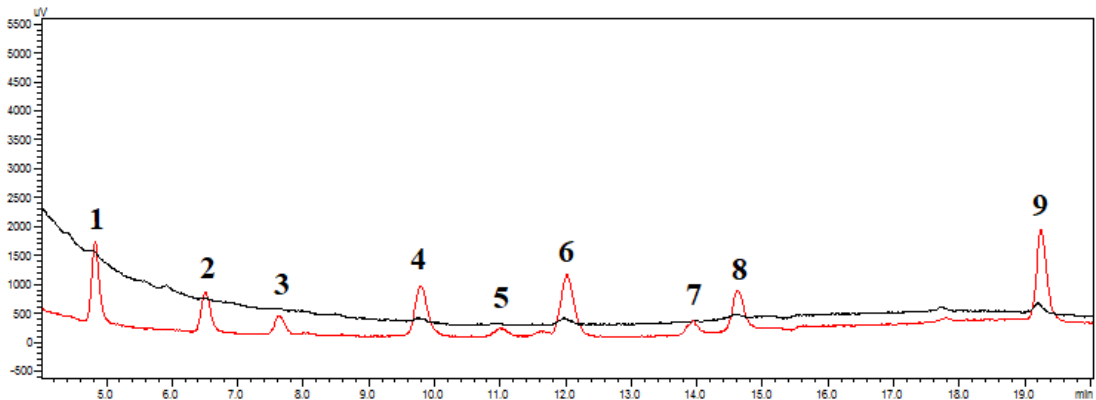
Fonte: Autoria Própria (2024).

1 **Figura 15:** Cromatogramas obtidos a 280 nm para a amostra branco (em
2 preto, amostra 6) e a amostra fortificada (em vermelho, fortificada a $10 \mu\text{g L}^{-1}$,
3 ambas submetidas ao método de extração otimizado.



4
5 **Fonte:** Autoria Própria (2024).
6

7 **Figura 16:** Cromatogramas obtidos a 280 nm para a amostra branco (em preto,
8 amostra 7) e a amostra fortificada (em vermelho, fortificada a $10 \mu\text{g L}^{-1}$), ambas
9 submetidas ao método de extração otimizado.



10
11 **Fonte:** Autoria Própria (2024).
12
13
14
15
16
17
18

1 **Tabela 10:** Resumo da concentração dos analitos nas amostras.

Analitos	Amostras de Água						
	1	2	3	4	5	6	7
EE2	ND ^a	ND	ND	ND	ND	ND	ND
CF	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
MP	ND	ND	2,38	ND	ND	ND	ND
EtP	ND	ND	1,76	ND	ND	ND	ND
PrP	ND	ND	2,43	ND	ND	ND	ND
BP	ND	ND	3,47	ND	ND	ND	ND
DIU	ND	ND	3,99	ND	ND	ND	ND
IND	ND	ND	5,14	ND	ND	ND	ND
NAP	ND	ND	4,16	ND	ND	ND	ND
Σ^{TOTAL}	ND	ND	23,33	ND	ND	ND	ND

2 ^a Não Detectado.3 **Fonte:** Autoria Própria (2024).
4

5 Conforme observado, apenas a amostra (3) apresentou concentrações
6 detectáveis (dentro dos limites de detecção do método proposto) para quase todos os
7 analitos, com exceção de EE2 e CF. Essa amostra foi coletada em um córrego que
8 atravessa uma área densamente ocupada, incluindo residências, edifícios e
9 universidade, o que a torna mais suscetível à contaminação. O descarte inadequado
10 de contaminantes, como produtos químicos de uso doméstico e farmacêuticos, pode
11 contribuir para a presença desses analitos na água. Em termos de legislação, essa
12 amostra excede os padrões europeus para águas superficiais, uma vez que a
13 concentração de diuron detectada superou a concentração máxima permitida de 1,8
14 $\mu\text{g L}^{-1}$ (Diretiva 2000/60/EC; Diretiva 2008/105/EC)^{50,51}.

15 As amostras (1) e (2), utilizadas para a recuperação relativa, foram coletadas
16 em uma zona de reserva ambiental e em água potável (torneira), respectivamente.
17 Essas duas amostras apresentaram concentrações não detectáveis dos analitos
18 (dentro dos limites de quantificação e detecção do método). Para ambos os pesticidas,
19 nenhuma concentração foi detectada na amostra de água potável, indicando
20 conformidade com a Resolução MS 888/21⁴⁸ e com o Safe Drinking Water Act (SDWA
21 sob a EPA, 2021)⁵². Embora o método não atenda aos requisitos mais rigorosos da

1 Diretiva de Água Potável da UE (Council Directive 98/83/EC)⁴⁹, ele permanece em
2 conformidade com as regulamentações brasileiras e norte-americanas.

3 Além disso, embora as outras amostras também passem por áreas
4 urbanizadas, nenhuma concentração de contaminantes foi detectada com o método
5 proposto. Esses resultados são favoráveis para os níveis de potabilidade da água e
6 demonstram a ausência de contaminação na zona de reserva ambiental. Os
7 resultados das análises reforçam a importância do monitoramento das áreas urbanas
8 e reservas ambientais, bem como a eficácia dos programas de tratamento de água. A
9 conformidade com as regulamentações vigentes também indica que os métodos de
10 tratamento de água empregados na cidade são adequados para proteção da saúde
11 pública, minimizando os riscos de exposição a contaminantes.

12

13 **5.5. Avaliação da Sustentabilidade do Método**

14 Para avaliar a sustentabilidade do método proposto, utilizou-se o software
15 AGREEprep, que se destaca por sua ênfase na etapa de preparo de amostras dentro
16 dos princípios da Química Analítica Verde. O AGREEprep avalia a sustentabilidade
17 ambiental com base em 10 categorias de impacto, incluindo escolha e uso de
18 solventes, geração de resíduos, consumo de energia, volume de amostra e frequência
19 analítica. Os resultados de cada critério são recalculados para uma escala de 0 a 1, e
20 uma pontuação final é gerada, com 1,0 representando a melhor performance
21 ambiental. Além disso, a ferramenta permite a atribuição de pesos específicos para
22 cada critério, personalizando a análise conforme as prioridades do estudo. Os
23 resultados são apresentados em um pictograma visualmente intuitivo, que facilita a
24 identificação dos principais pontos de melhoria do método avaliado.

25 A aplicação do AGREEprep ao método proposto forneceu resultados que,
26 embora não indiquem um método completamente "verde", evidenciam sua
27 sustentabilidade em diversos aspectos, como apresentado na Figura 17.

1 **Figura 17:** Relatório de sustentabilidade do método proposto.

2

3

Fonte: AGREEprep (2024).

4 O método demonstrou vantagens relevantes, especialmente pela alta
5 frequência analítica (14,45 amostras por hora) e automatização da técnica de preparo
6 de amostra. Além disso, a reutilização da fase extratora ao longo do processo reduz
7 significativamente o descarte e a geração de resíduos, contribuindo para um impacto
8 ambiental menor. Contudo, algumas penalidades foram observadas, como o uso de
9 solventes orgânicos, ainda que em pequenos volumes, e o consumo energético
10 associado à instrumentação analítica. Apesar disso, esses aspectos são balanceados

1 pelas melhorias na segurança do operador, devido à redução de riscos durante as
2 operações, e pelo elevado nível de automatização, que minimiza a intervenção
3 manual, aumentando a repetibilidade e eficiência do preparo de amostras.

4 Por fim, o AGREEprep demonstrou ser uma ferramenta eficaz para identificar
5 pontos críticos e potencializar a sustentabilidade de métodos analíticos,
6 especialmente na etapa de preparo de amostras. A análise evidencia que, com ajustes
7 pontuais, o método proposto tem grande potencial para atender às demandas de
8 sustentabilidade sem comprometer a eficiência e a qualidade analítica.

9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34

6. CONCLUSÕES

O método desenvolvido neste estudo é uma alternativa direta e promissora para a determinação multiclasse em amostras de água. Otimizado com sucesso por meio de abordagens univariadas e multivariadas, o método demonstra excelente desempenho analítico, com limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ) aprimorados, além de uma faixa linear ampla, precisão e recuperação aceitáveis.

A automatização não apenas minimiza o erro humano, mas também aumenta a precisão e a exatidão dos resultados. Além disso, os riscos à saúde do analista são drasticamente reduzidos, pois os processos de extração e posterior dessorção são realizados automaticamente, permitindo que o analista mantenha uma distância segura do dispositivo e minimize a exposição a reagentes.

Esse novo método representa um avanço significativo no campo do preparo de amostras ao utilizar volumes menores de amostras, reduzir o consumo de solventes e alcançar uma alta frequência analítica, com um tempo de extração inferior a 5 minutos por amostra. Em comparação com métodos relatados na literatura, essa abordagem oferece melhorias em termos de eficiência e eficácia, com baixo consumo de amostras e solventes, além de alta frequência analítica. Além disso, a simplicidade do procedimento torna o método acessível para laboratórios que buscam implementar técnicas mais verdes e eficientes, alinhadas aos princípios da Química Analítica Verde. Assim, o método desenvolvido não só atende às exigências analíticas rigorosas, como também contribui para práticas laboratoriais mais sustentáveis e seguras.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. da Silva AC, Mafra G, Spudeit D, Merib J, Carasek E. Magnetic ionic liquids as an efficient tool for the multiresidue screening of organic contaminants in river water samples. *Sep Sci Plus*. 2019;2(2):51-58. doi:10.1002/sscp.201900010
2. Lahens L, Correa JA, Cabana H, Huot Y, Segura PA. Influence of anthropogenic activities on the trace organic contamination of lakes. *Science of The Total Environment*. 2024;949:175087. doi:10.1016/j.scitotenv.2024.175087
3. Cartaxo A da SB, Albuquerque MV da C, Paula e Silva MCC de, et al. Contaminantes emergentes presentes em águas destinadas ao consumo humano: ocorrência, implicações e tecnologias de tratamento. *Brazilian Journal of Development*. 2020;6(8):61814-61827. doi:10.34117/bjdv6n8-559
4. Muguirrima PVM, Chirinza NP, León Zerpa F, Mendieta Pino CA. Treatment of domestic effluents using sustainable biofilter methods. *Desalination Water Treat*. 2024;317:100266. doi:10.1016/j.dwt.2024.100266
5. Goudinho VITÓ CV, Bernardo Ferreira da SILVA LJ, Lima OLIVEIRA KDM, GOMES AT, De Oliveira NUNES CR. Avaliação da qualidade da água: determinação dos possíveis contaminantes da água de poços artesianos na região noroeste fluminense. *Acta Biomédica Brasiliensia*. 2016;7(2):59-75. doi:10.18571/acbm.111
6. Montagner CC, Vidal C, Acayaba RD. Contaminantes emergentes em matrizes aquáticas do Brasil: cenário atual e aspectos analíticos, ecotoxicológicos e regulatórios. *Quim Nova*. 2017;40(9):1094-1110. doi:10.21577/0100-4042.20170091
7. Farto C, Júnior G, Sena R, Rosenhaim R. Contaminantes de preocupação emergente no Brasil na década 2010-2019 - Parte I: ocorrência em diversos ambientes aquáticos. *Revista de Gestão de Água da América Latina*. 2021;18(1):6-0. doi:10.21168/rega.v18e6
8. Pereira LC, de Souza AO, Bernardes MFF, et al. A perspective on the potential risks of emerging contaminants to human and environmental health. *Environmental Science and Pollution Research*. 2015;22(18):13800-13823. doi:10.1007/s11356-015-4896-6
9. Çelebi A, Canlı O, Güzel B, Çetintürk K. Ecotoxicological risk assessments and components of persistent organic pollutants and metals in the

- 1 historical settlement area (Iznik (Nicea) lake) large water resource
2 sediments. *Mar Pollut Bull.* 2024;202:116339.
3 doi:10.1016/j.marpolbul.2024.116339
- 4 10. Chang BV, Fan SN, Tsai YC, Chung YL, Tu PX, Yang CW. Removal of
5 emerging contaminants using spent mushroom compost. *Science of The*
6 *Total Environment.* 2018;634:922-933.
7 doi:10.1016/j.scitotenv.2018.03.366
- 8 11. Parida VK, Saidulu D, Majumder A, Srivastava A, Gupta B, Gupta AK.
9 Emerging contaminants in wastewater: A critical review on occurrence,
10 existing legislations, risk assessment, and sustainable treatment
11 alternatives. *J Environ Chem Eng.* 2021;9(5):105966.
12 doi:10.1016/j.jece.2021.105966
- 13 12. Haman C, Dauchy X, Rosin C, Munoz JF. Occurrence, fate and behavior
14 of parabens in aquatic environments: A review. *Water Res.* 2015;68:1-11.
15 doi:10.1016/j.watres.2014.09.030
- 16 13. Abuhassan Q, Khadra I, Pyper K, Halbert GW. Small scale in vitro method
17 to determine a bioequivalent equilibrium solubility range for fasted human
18 intestinal fluid. *European Journal of Pharmaceutics and*
19 *Biopharmaceutics.* 2021;168:90-96. doi:10.1016/j.ejpb.2021.08.002
- 20 14. Merib J, Spudeit DA, Corazza G, Carasek E, Anderson JL. Magnetic ionic
21 liquids as versatile extraction phases for the rapid determination of
22 estrogens in human urine by dispersive liquid-liquid microextraction
23 coupled with high-performance liquid chromatography-diode array
24 detection. *Anal Bioanal Chem.* 2018;410(19):4689-4699.
25 doi:10.1007/s00216-017-0823-7
- 26 15. Wolf M, Alves T, Piovezan M. Ocorrência de parabens nas águas de uma
27 micro bacia hidrográfica na cidade de Itajaí (Santa Catarina, Brasil).
28 *Estrabão.* 2022;3:174-187. doi:10.53455/re.v3i.64
- 29 16. Akmes A, Dalmaz A, Sivrikaya Özak S. Hydrophilic deep eutectic solvent
30 based microextraction procedure for the determination of four paraben
31 preservatives in vitamin D for babies: A green approach. *Microchemical*
32 *Journal.* 2023;193:109013. doi:10.1016/j.microc.2023.109013
- 33 17. Derisso CR, Pompei CME, Spadoto M, da Silva Pinto T, Vieira EM.
34 Occurrence of Parabens in Surface Water, Wastewater Treatment Plant
35 in Southeast of Brazil and Assessment of Their Environmental Risk. *Water*
36 *Air Soil Pollut.* 2020;231(9):468. doi:10.1007/s11270-020-04835-0

- 1 18. Paxéus N. Organic pollutants in the effluents of large wastewater
2 treatment plants in Sweden. *Water Res.* 1996;30(5):1115-1122.
3 doi:10.1016/0043-1354(95)00278-2
- 4 19. Mitra P, Chatterjee S, Paul N, Ghosh S, Das M. An Overview of Endocrine
5 Disrupting Chemical Paraben and Search for An Alternative – A Review.
6 *Proc Zool Soc.* 2021;74(4):479-493. doi:10.1007/s12595-021-00418-x
- 7 20. Zhao X, Qiu W, Zheng Y, Xiong J, Gao C, Hu S. Occurrence, distribution,
8 bioaccumulation, and ecological risk of bisphenol analogues, parabens
9 and their metabolites in the Pearl River Estuary, South China. *Ecotoxicol*
10 *Environ Saf.* 2019;180:43-52. doi:10.1016/j.ecoenv.2019.04.083
- 11 21. Pereira AR, Simões M, Gomes IB. Parabens as environmental
12 contaminants of aquatic systems affecting water quality and microbial
13 dynamics. *Science of The Total Environment.* 2023;905:167332.
14 doi:10.1016/j.scitotenv.2023.167332
- 15 22. Puckowski A, Mioduszevska K, Łukaszewicz P, *et al.* Bioaccumulation
16 and analytics of pharmaceutical residues in the environment: A review. *J*
17 *Pharm Biomed Anal.* 2016;127:232-255. doi:10.1016/j.jpba.2016.02.049
- 18 23. Rastogi A, Tiwari MK, Ghangrekar MM. A review on environmental
19 occurrence, toxicity and microbial degradation of Non-Steroidal Anti-
20 Inflammatory Drugs (NSAIDs). *J Environ Manage.* 2021;300:113694.
21 doi:10.1016/j.jenvman.2021.113694
- 22 24. Pironti C, Ricciardi M, Proto A, Bianco PM, Montano L, Motta O.
23 Endocrine-Disrupting Compounds: An Overview on Their Occurrence in
24 the Aquatic Environment and Human Exposure. *Water (Basel).*
25 2021;13(10):1347. doi:10.3390/w13101347
- 26 25. Bisognin RP, Wolff DB, Carissimi E. Revisão sobre fármacos no ambiente.
27 *Revista DAE.* 2017;66(210):78-95. doi:10.4322/dae.2018.009
- 28 26. Bila DM, Dezotti M. Fármacos no meio ambiente. *Quim Nova.*
29 2003;26(4):523-530. doi:10.1590/S0100-40422003000400015
- 30 27. Lima DRS, Tonucci MC, Libânio M, Aquino SF de. Fármacos e
31 desreguladores endócrinos em águas brasileiras: ocorrência e técnicas de
32 remoção. *Engenharia Sanitaria e Ambiental.* 2017;22(6):1043-1054.
33 doi:10.1590/s1413-41522017165207
- 34 28. Filho RWR, Luvizotto-Santos R, Vieira EM. Poluentes Emergentes como
35 Desreguladores Endócrinos. *Journal of the Brazilian Society of*
36 *Ecotoxicology.* 2007;2(3):283-288. doi:10.5132/jbse.2007.03.012

- 1 29. Silva RF, Silva GL, Silva PTS, Silva VL. Identification and Quantification
2 of Emerging Contaminants in Sewage Treatment Plants. *Revista Virtual*
3 *de Química*. 2016;8. doi:10.5935/1984-6835.20160053
- 4 30. Verbinnen RT, Nunes GS, Vieira EM. Determinação de hormônios
5 estrógenos em água potável usando CLAE-DAD. *Quim Nova*.
6 2010;33(9):1837-1842. doi:10.1590/S0100-40422010000900003
- 7 31. Silans A, Werlang L, Goldfarb M. Desenvolvimento de um Modelo SVATS
8 para a Região Semi-Árida do Cariri Paraibano. *Revista Brasileira de*
9 *Recursos Hídricos*. 2008;13(4):5-15. doi:10.21168/rbrh.v13n4.p5-15
- 10 32. Ruiz GCM, do Carmo Morato LF, Pazin WM, *et al.* Chemical and
11 morphological effects of the contraceptive hormone 17 α -ethynylestradiol
12 on fluid lipid membranes. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2021;204:111794.
13 doi:10.1016/j.colsurfb.2021.111794
- 14 33. Almeida Â, Silva MG, Soares AMVM, Freitas R. Concentrations levels and
15 effects of 17 α -Ethinylestradiol in freshwater and marine waters and
16 bivalves: A review. *Environ Res*. 2020;185:109316.
17 doi:10.1016/j.envres.2020.109316
- 18 34. Rodrigues JS, Cordeiro J, Calazans GM, Cordeiro JL, Guimarães JCS.
19 Presença de fármacos e hormônios na água: uma análise cienciométrica.
20 *Research, Society and Development*. 2018;7(6):e776185.
21 doi:10.17648/rsd-v7i6.240
- 22 35. Alves da Silva AP, De Oliveira CDL, Siqueira Quirino AM, Da Silva FDM,
23 Aquino Saraiva R de, Silva-Cavalcanti JS. Endocrine Disruptors in Aquatic
24 Environment: Effects and Consequences on the Biodiversity of Fish and
25 Amphibian Species. *Aquatic Science and Technology*. 2018;6(1):35.
26 doi:10.5296/ast.v6i1.12565
- 27 36. Klaić M, Jirsa F. 17 α -Ethinylestradiol (EE2): concentrations in the
28 environment and methods for wastewater treatment – an update. *RSC*
29 *Adv*. 2022;12(20):12794-12805. doi:10.1039/D2RA00915C
- 30 37. Aquino SF de, Brandt EMF, Chernicharo CA de L. *Remoção de Fármacos*
31 *e Desreguladores Endócrinos Em de Tratamento de Esgoto: Revisão Da*
32 *Literatura.*; 2013.
- 33 38. Vega-Morales T, Sosa-Ferrera Z, Santana-Rodríguez JJ. Determination of
34 alkylphenol polyethoxylates, bisphenol-A, 17 α -ethinylestradiol and 17 β -
35 estradiol and its metabolites in sewage samples by SPE and LC/MS/MS.
36 *J Hazard Mater*. 2010;183(1-3):701-711.
37 doi:10.1016/j.jhazmat.2010.07.083

- 1 39. Fernandes VC, Domingues VF, Mateus N, Delerue-Matos C. Comparison
2 of Disposable Pipette Extraction and Dispersive Solid-Phase Extraction in
3 the QuEChERS Method for Analysis of Pesticides in Strawberries. *J*
4 *Chromatogr Sci.* 2014;52(10):1339-1345. doi:10.1093/chromsci/bmu003
- 5 40. Gaboardi SC, Candiotto LZP, Panis C. Agribusiness in Brazil and its
6 dependence on the use of pesticides. *Hygiene and Environmental Health*
7 *Advances.* 2023;8:100080. doi:10.1016/j.heha.2023.100080
- 8 41. Caldas SS, Gonçalves FF, Primel EG, Prestes OD, Martins ML, Zanella
9 R. Principais técnicas de preparo de amostra para a determinação de
10 resíduos de agrotóxicos em água por cromatografia líquida com detecção
11 por arranjo de diodos e por espectrometria de massas. *Quim Nova.*
12 2011;34(9):1604-1617. doi:10.1590/S0100-40422011000900021
- 13 42. Rajput S, Kumari A, Arora S, Kaur R. Multi-residue pesticides analysis in
14 water samples using reverse phase high performance liquid
15 chromatography (RP-HPLC). *MethodsX.* 2018;5:744-751.
16 doi:10.1016/j.mex.2018.07.005
- 17 43. Silva AC da. Uso de líquidos iônicos magnéticos associados a
18 microextração líquido-líquido dispersiva para a determinação
19 multirresíduo de contaminantes orgânicos em amostras de água de rio.
20 Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Santa Catarina; 2018.
- 21 44. Tison L, Beaumelle L, Monceau K, Thiéry D. Transfer and bioaccumulation
22 of pesticides in terrestrial arthropods and food webs: State of knowledge
23 and perspectives for research. *Chemosphere.* 2024;357:142036.
24 doi:10.1016/j.chemosphere.2024.142036
- 25 45. Chaudhari YS, Kumar P, Soni S, *et al.* An inclusive outlook on the fate and
26 persistence of pesticides in the environment and integrated eco-
27 technologies for their degradation. *Toxicol Appl Pharmacol.*
28 2023;466:116449. doi:10.1016/j.taap.2023.116449
- 29 46. Herrero-Hernández E, Andrades MS, Álvarez-Martín A, Pose-Juan E,
30 Rodríguez-Cruz MS, Sánchez-Martín MJ. Occurrence of pesticides and
31 some of their degradation products in waters in a Spanish wine region. *J*
32 *Hydrol (Amst).* 2013;486:234-245. doi:10.1016/j.jhydrol.2013.01.025
- 33 47. Corazza G, Merib J, do Carmo S, Mendes L, Carasek E. Assessment of a
34 Fully Optimized DPX-Based Procedure for the Multiclass Determination of
35 Pesticides in Drinking Water Using High-Performance Liquid
36 Chromatography with Diode Array Detection. *J Braz Chem Soc.*
37 2019;30(6):1211-1221. doi:10.21577/0103-5053.20190016

- 1 48. Ministério da Saúde. PORTARIA GM/MS N° 888. May 4, 2021. Accessed
2 August 11, 2024.
3 https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2021/prt0888_07_05_2021.html
4
- 5 49. European Union. Council Directive 98/83/EC of 3 November 1998 on the
6 quality of water intended for human consumption. November 3, 1998.
7 Accessed October 22, 2024. <https://eur-lex.europa.eu/eli/dir/1998/83/oj>
- 8 50. European Union. Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of
9 the Council of 23 October 2000 establishing a framework for Community
10 action in the field of water policy. October 23, 2000. Accessed October 21,
11 2024. <https://eur-lex.europa.eu/eli/dir/2000/60/oj>
- 12 51. European Union. Directive 2008/105/EC of the European Parliament and
13 of the Council of 16 December 2008 on environmental quality standards
14 in the field of water policy, amending and subsequently repealing Council
15 Directives 82/176/EEC, 83/513/EEC, 84/156/EEC, 84/491/EEC,
16 86/280/EEC and amending Directive 2000/60/EC of the European
17 Parliament and of the Council. December 16, 2008. Accessed October 21,
18 2024. <https://eur-lex.europa.eu/eli/dir/2008/105/oj>
- 19 52. U.S. Environmental Protection Agency. National Primary Drinking Water
20 Regulations. October 9, 2024. Accessed November 5, 2024.
21 [https://www.epa.gov/ground-water-and-drinking-water/national-primary-](https://www.epa.gov/ground-water-and-drinking-water/national-primary-drinking-water-regulations)
22 [drinking-water-regulations](https://www.epa.gov/ground-water-and-drinking-water/national-primary-drinking-water-regulations)
- 23 53. Soares da Silva Burato J, Vargas Medina DA, de Toffoli AL, Vasconcelos
24 Soares Maciel E, Mauro Lanças F. Recent advances and trends in
25 miniaturized sample preparation techniques. *J Sep Sci.* 2020;43(1):202-
26 225. doi:10.1002/jssc.201900776
- 27 54. Oenning AL, Morés L, Dias AN, Carasek E. A new configuration for bar
28 adsorptive microextraction (BA μ E) for the quantification of biomarkers
29 (hexanal and heptanal) in human urine by HPLC providing an alternative
30 for early lung cancer diagnosis. *Anal Chim Acta.* 2017;965:54-62.
31 doi:10.1016/j.aca.2017.02.034
- 32 55. Souza Futigami L, Barcellos Hoff R, Turnes Pasini Deolindo C, *et al.*
33 Search for new green natural solid phases for sample preparation for
34 PAHs determination in seafood samples followed by LC and GC–MS/MS
35 analysis. *Food Research International.* 2024;183:114240.
36 doi:10.1016/j.foodres.2024.114240
- 37 56. Pereira-Coelho M, Haas IC da S, Katrin Reinke C, *et al.* A green analytical
38 method for the determination of polyphenols in wine by dispersive pipette

- 1 extraction and LC-MS/MS. *Food Chem.* 2023;405(Part A):134860.
2 doi:10.1016/j.foodchem.2022.134860
- 3 57. Arthur CL, Pawliszyn Janusz. Solid phase microextraction with thermal
4 desorption using fused silica optical fibers. *Anal Chem.* 1990;62(19):2145-
5 2148. doi:10.1021/ac00218a019
- 6 58. Yu M, Roszkowska A, Pawliszyn J. *In Vivo* Solid-Phase Microextraction
7 and Applications in Environmental Sciences. *ACS Environmental Au.*
8 2022;2(1):30-41. doi:10.1021/acsenvironau.1c00024
- 9 59. Carasek E, Morés L, Huelsmann RD. Disposable pipette extraction: A
10 critical review of concepts, applications, and directions. *Anal Chim Acta.*
11 2022;1192. doi:10.1016/j.aca.2021.339383
- 12 60. Oliveira TC, Lanças FM. Extração de pesticidas em amostras de alimentos
13 através de sorção em ponteiros descartáveis. *Scientia Chromatographica.*
14 2019;10(4). doi:10.5935/sc.2019.003
- 15 61. Chaves AR, Moura BHF, Caris JA, Rabelo D, Queiroz MEC. The
16 development of a new disposable pipette extraction phase based on
17 polyaniline composites for the determination of levels of antidepressants
18 in plasma samples. *J Chromatogr A.* 2015;1399:1-7.
19 doi:10.1016/j.chroma.2015.04.027
- 20 62. Oliveira TC, Lanças FM. Determination of selected herbicides employed
21 in sugarcane crops by disposable pipette tip (DPX) extraction followed by
22 LC-MS/MS and GC-MS/MS. *J Liq Chromatogr Relat Technol.* 2021;44(17-
23 20):872-879. doi:10.1080/10826076.2022.2110115
- 24 63. Gomes IC, Martins RO, Machado LS, *et al.* Molecularly imprinted polymer
25 as sorbent phase for disposable pipette extraction: A potential approach
26 for creatinine analysis in human urine samples. *J Pharm Biomed Anal.*
27 2022;211:114625. doi:10.1016/j.jpba.2022.114625
- 28 64. Oliveira TC, Lanças FM. Determination of selected herbicides in
29 sugarcane-derived foods by graphene-oxide based disposable pipette
30 extraction followed by liquid chromatography-tandem mass spectrometry.
31 *J Chromatogr A.* 2023;1687:463690. doi:10.1016/j.chroma.2022.463690
- 32 65. Corazza G. *Explorando o Uso de Fases Extratoras Alternativas Em*
33 *Técnicas de Microextração Para a Determinação de Poluentes Em*
34 *Amostras Ambientais, Contaminantes Em Amostras Alimentícias e*
35 *Biomonitoramento de Compostos Orgânicos Em Amostras Biológicas.*
36 Tese de Doutorado. Universidade Federal de Santa Catarina; 2020.

- 1 66. Comelli H, Will C, Morés L, Bernardi G, Carasek E. Disposable Pipette
2 Extraction (DPX) Coupled to HPLC-DAD as an Alternative for the
3 Determination of Phthalic Monoesters in Urine Samples. *Separations*.
4 2022;9(10):294. doi:10.3390/separations9100294
- 5 67. Sajid M, Płotka-Wasyłka J. Green analytical chemistry metrics: A review.
6 *Talanta*. 2022;238:123046. doi:10.1016/j.talanta.2021.123046
- 7 68. Bortolotto A, Will C, Huelsmann RD, Carasek E. Lab-made automated
8 parallel-dispersive pipette extraction device for the determination of
9 polycyclic aromatic hydrocarbons in distilled beverages (sugarcane spirits)
10 using HPLC-DAD. *J Chromatogr A*. Published online August
11 2024:465257. doi:10.1016/j.chroma.2024.465257
- 12 69. Huelsmann RD, Will C, Carasek E. Novel strategy for disposable pipette
13 extraction (DPX): Low-cost Parallel-DPX for determination of phthalate
14 migration from common plastic materials to saliva simulant with GC-MS.
15 *Talanta*. 2021;221. doi:10.1016/j.talanta.2020.121443
- 16 70. Gałuszka A, Migaszewski Z, Namieśnik J. The 12 principles of green
17 analytical chemistry and the SIGNIFICANCE mnemonic of green analytical
18 practices. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 2013;50:78-84.
19 doi:10.1016/j.trac.2013.04.010
- 20 71. Huelsmann RD. *Extração Em Ponteiras Descartáveis: Desenvolvimento*
21 *de Estratégias de Mecanização, Avaliação de Suas Potencialidades e*
22 *Limitações*. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Santa Catarina;
23 2023.
- 24 72. Armenta S, Garrigues S, Esteve-Turrillas FA, de la Guardia M. Green
25 extraction techniques in green analytical chemistry. *TrAC Trends in*
26 *Analytical Chemistry*. 2019;116:248-253. doi:10.1016/j.trac.2019.03.016
- 27 73. López-Lorente Ál, Pena-Pereira F, Pedersen-Bjergaard S, Zuin VG,
28 Ozkan SA, Psillakis E. The ten principles of green sample preparation.
29 *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 2022;148:116530.
30 doi:10.1016/j.trac.2022.116530
- 31 74. Pereira-Coelho M, da Silva Haas IC, Vitali L, dos Santos Madureira LA.
32 Dispersive Pipette Extraction and HPLC-DAD for the Determination of
33 Polyphenols in Grape Juice. *Food Anal Methods*. 2024;17(2):269-283.
34 doi:10.1007/s12161-023-02565-7
- 35 75. Hyde AM, Zultanski SL, Waldman JH, Zhong YL, Shevlin M, Peng F.
36 General Principles and Strategies for Salting-Out Informed by the
37 Hofmeister Series. *Org Process Res Dev*. 2017;21(9):1355-1370.
38 doi:10.1021/acs.oprd.7b00197

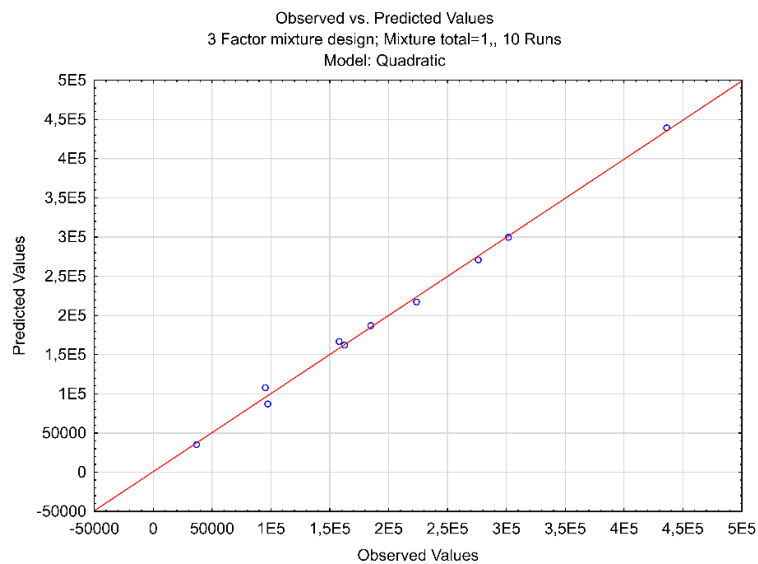
- 1 76. Tang S, Qi T, Ansah PD, *et al.* Single-drop microextraction. *TrAC Trends*
2 *in Analytical Chemistry*. 2018;108:306-313.
3 doi:10.1016/j.trac.2018.09.016
- 4 77. AOAC International. Guidelines for Standard Method Performance
5 Requirements, AOAC Official Methods of Analysis.
- 6 78. Marta-Sanchez AV, Caldas SS, Schneider A, Cardoso SMVS, Primel EG.
7 Trace analysis of parabens preservatives in drinking water treatment
8 sludge, treated, and mineral water samples. *Environmental Science and*
9 *Pollution Research*. 2018;25(15):14460-14470. doi:10.1007/s11356-018-
10 1583-4
- 11 79. Prokic D, Vukcevic M, Maletic M, *et al.* Solid-phase extraction of estrogen
12 hormones onto chemically modified carbon cryogel. *Journal of the Serbian*
13 *Chemical Society*. 2024;(00):55-55. doi:10.2298/JSC240313055P
- 14 80. Acayaba RD, de Albuquerque AF, Ribessi RL, Umbuzeiro G de A,
15 Montagner CC. Occurrence of pesticides in waters from the largest sugar
16 cane plantation region in the world. *Environmental Science and Pollution*
17 *Research*. 2021;28(8):9824-9835. doi:10.1007/s11356-020-11428-1
- 18 81. Sadutto D, Álvarez-Ruiz R, Picó Y. Systematic assessment of extraction
19 of pharmaceuticals and personal care products in water and sediment
20 followed by liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Anal*
21 *Bioanal Chem*. 2020;412(1):113-127. doi:10.1007/s00216-019-02207-0
- 22 82. Abdelaziz MA, Danielson ND. A Cyanoalkyl Silicone GC Stationary-Phase
23 Polymer as an Extractant for Dispersive Liquid–Liquid Microextraction.
24 *Separations*. 2024;11(1):18. doi:10.3390/separations11010018
- 25 83. Arismendi D, Becerra-Herrera M, Cerrato I, Richter P. Simultaneous
26 determination of multiresidue and multiclass emerging contaminants in
27 waters by rotating-disk sorptive extraction–derivatization-gas
28 chromatography/mass spectrometry. *Talanta*. 2019;201:480-489.
29 doi:10.1016/j.talanta.2019.03.120

1 **APÊNDICE A – DADOS DOS TESTES ESTATÍSTICOS PARA A SELEÇÃO**
 2 **DO SOLVENTE DE DESSORÇÃO**

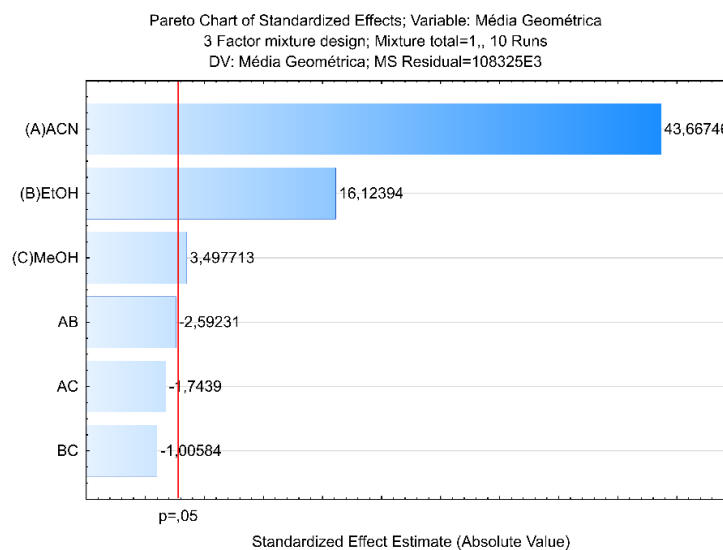
3 **Tabela A-1: Estatística da seleção do solvente de dessorção.**

ANOVA						
Modelo	Efeito SQ	gl	Efeito MQ	F	valor-P	R ²
Linear	1,22E+11	2	6,12E+10	268,69	<1E-6	0,987
Quadrático	1,16E+09	3	3,87E+08	3,57	0,125	0,996
Total	1,24E+11	9	1,38E+10			

4
 5 **Figura A-1: Gráfico de resíduos observados vs. preditos para o modelo**
 6 **quadrático.**



7
 8
 9 **Figura A-2: Gráfico de pareto para o modelo quadrático.**



**APÊNDICE B – DADOS DOS TESTES ESTATÍSTICOS PARA A SELEÇÃO
DOS CICLOS DE DESSORÇÃO**

Tabela B-1: Estatística da seleção dos ciclos de deessorção.

ANOVA						
Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F	F crítico	valor-P
Entre grupos	3,23E+10	6	5,38E+09	8,836	2,848	4,18E-04
Dentro dos grupos	8,52E+09	14	6,08E+08			
Total	4,08E+10	20				

Comparação usando o teste de Tukey		
Ciclos de deessorção	Ciclos de deessorção	valor-P
1 Ciclo	2 Ciclos	0,03806
	3 Ciclos	0,00026
	4 Ciclos	0,04031
	5 Ciclos	0,01487
	6 Ciclos	0,00056
	7 Ciclos	0,09532
2 Ciclos	3 Ciclos	0,13653
	4 Ciclos	1,00000
	5 Ciclos	0,99810
	6 Ciclos	0,28147
	7 Ciclos	0,99802
3 Ciclos	4 Ciclos	0,12952
	5 Ciclos	0,30262
	6 Ciclos	0,99893
	7 Ciclos	0,05578
4 Ciclos	5 Ciclos	0,99735
	6 Ciclos	0,26878
	7 Ciclos	0,99861
5 Ciclos	6 Ciclos	0,54146
	7 Ciclos	0,93561
6 Ciclos	7 Ciclos	0,12472

Análise de grupos significativos para ciclos de deessorção com teste de Tukey		
Ciclos de Dessorção	Média	Grupo
3 Ciclos	476900,7813	A
6 Ciclos	467496,5989	A
5 Ciclos	430311,6489	A
2 Ciclos	419880,6776	A
4 Ciclos	419237,7321	A
7 Ciclos	409375,1698	A, B
1 Ciclo	348042,3954	B

**APÊNDICE C – DADOS DOS TESTES ESTATÍSTICOS PARA A SELEÇÃO
DO PH**

Tabela C-1: Estatística da seleção do pH utilizando a média geométrica das áreas dos picos cromatográficos.

ANOVA						
Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F	F crítico	valor-P
Entre grupos	2,46E+10	4	6,15E+09	12,877	3,478	5,89E-04
Dentro dos grupos	4,78E+09	10	4,78E+08			
Total	2,94E+10	14				

Comparação usando o teste de Tukey

pH	pH	valor-P
pH 2	pH 4	0,00919
	pH 6	0,00161
	pH 8	0,00044
	pH 10	0,02921
pH 4	pH 6	0,73954
	pH 8	0,24593
	pH 10	0,93709
pH 6	pH 8	0,84871
	pH 10	0,33995
pH 8	pH 10	0,08055

Análise de grupos significativos para pH com teste de Tukey

pH	Média	Grupo
pH 8	480893,829	A
pH 6	463012,0021	A
pH 4	441191,9738	A
pH 10	427670,7078	A
pH 2	362766,1927	B

1 **Tabela C-2:** Estatística da seleção do pH para o 17 α -Ethinilestradiol.

ANOVA						
Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F	F crítico	valor-P
Entre grupos	1,72E+08	4	4,30E+07	11,66	3,478	8,78E-04
Dentro dos grupos	3,69E+07	10	3,69E+06			
Total	2,94E+10	14				

2

Comparação usando o teste de Tukey		
pH	pH	valor-P
	pH 4	0,00062
pH 2	pH 6	0,09406
	pH 8	0,0226
	pH 10	0,6293
pH 4	pH 6	0,03794
	pH 8	0,15539
	pH 10	0,0042
pH 6	pH 8	0,88207
	pH 10	0,60691
pH 8	pH 10	0,19719

3

Análise de grupos significativos para pH com teste de Tukey		
pH	Média	Grupo
pH 4	48497,33333	A
pH 8	44505	A, B
pH 6	43059,66667	B, C
pH 10	40770,33333	B, C
pH 2	38543	C

4

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

1

Tabela C-3: Estatística da seleção do pH para o Carbofurano.

ANOVA						
Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F	F crítico	valor-P
Entre grupos	3,39E+08	4	8,47E+07	5,319	3,478	0,0147
Dentro dos grupos	1,59E+08	10	1,59E+07			
Total	4,98E+08	14				

2

Comparação usando o teste de Tukey		
pH	pH	valor-P
	pH 4	0,0198
pH 2	pH 6	0,1227
	pH 8	0,0351
	pH 10	0,7437
pH 4	pH 6	0,7601
	pH 8	0,9953
	pH 10	0,1285
pH 6	pH 8	0,9208
	pH 10	0,5898
pH 8	pH 10	0,2205

3

Análise de grupos significativos para pH com teste de Tukey		
pH	Média	Grupo
pH 4	87580	A
pH 8	86369,66667	A
pH 6	83720,66667	A, B
pH 10	78862,33333	A, B
pH 2	74902,66667	B

4

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

1

Tabela C-4: Estatística da seleção do pH para o Metilparabeno.

ANOVA						
Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F	F crítico	valor-P
Entre grupos	3,37E+10	4	8,42E+09	2,422	3,478	0,11695
Dentro dos grupos	3,48E+10	10	3,48E+09			
Total	6,84E+10	14				

2

Comparação usando o teste de Tukey		
pH	pH	valor-P
	pH 4	0,2336
pH 2	pH 6	0,3114
	pH 8	0,1953
	pH 10	0,9818
pH 4	pH 6	0,9995
	pH 8	0,9999
	pH 10	0,4594
pH 6	pH 8	0,9966
	pH 10	0,5754
pH 8	pH 10	0,3962

3

Análise de grupos significativos para pH com teste de Tukey		
pH	Média	Grupo
pH 8	904402,33333	A
pH 4	898296,66667	A
pH 6	888017	A
pH 10	815028,66667	A
pH 2	789409	A

4

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

1

Tabela C-5: Estatística da seleção do pH para o Etilparabeno.

ANOVA						
Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F	F crítico	valor-P
Entre grupos	3,20E+10	4	8,00E+09	3,346	3,478	0,05523
Dentro dos grupos	2,39E+10	10	2,39E+09			
Total	5,59E+10	14				

2

Comparação usando o teste de Tukey		
pH	pH	valor-P
pH 2	pH 4	0,1004
	pH 6	0,238
	pH 8	0,1012
	pH 10	0,9423
pH 4	pH 6	0,9735
	pH 8	1
	pH 10	0,291
pH 6	pH 8	0,9743
	pH 10	0,5789
pH 8	pH 10	0,293

3

Análise de grupos significativos para pH com teste de Tukey		
pH	Média	Grupo
pH 4	847800,66667	A
pH 8	847597,33333	A
pH 6	824237	A
pH 10	763932,33333	A
pH 2	734445,33333	A

4

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

1

Tabela C-6: Estatística da seleção do pH para o Propilparabeno.

ANOVA						
Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F	F crítico	valor-P
Entre grupos	3,85E+10	4	9,63E+09	5,236	3,478	0,01545
Dentro dos grupos	1,84E+10	10	1,84E+09			
Total	5,69E+10	14				

2

Comparação usando o teste de Tukey		
pH	pH	valor-P
	pH 4	0,0196
pH 2	pH 6	0,1567
	pH 8	0,0381
	pH 10	0,7622
pH 4	pH 6	0,6669
	pH 8	0,9918
	pH 10	0,1209
pH 6	pH 8	0,881
	pH 10	0,6631
pH 8	pH 10	0,2261

3

Análise de grupos significativos para pH com teste de Tukey		
pH	Média	Grupo
pH 4	872066,66667	A
pH 8	857019,66667	A
pH 6	824639,33333	A, B
pH 10	776978,33333	A, B
pH 2	735649	B

4

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

1

Tabela C-7: Estatística da seleção do pH para o Butilparabeno.

ANOVA						
Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F	F crítico	valor-P
Entre grupos	2,39E+10	4	5,98E+09	7,133	3,478	0,00554
Dentro dos grupos	8,38E+09	10	8,38E+08			
Total	3,23E+10	14				

2

Comparação usando o teste de Tukey		
pH	pH	valor-P
	pH 4	0,0051
pH 2	pH 6	0,1562
	pH 8	0,0214
	pH 10	0,5745
pH 4	pH 6	0,237
	pH 8	0,8679
	pH 10	0,0511
pH 6	pH 8	0,7003
	pH 10	0,8383
pH 8	pH 10	0,2154

3

Análise de grupos significativos para pH com teste de Tukey		
pH	Média	Grupo
pH 4	643132,33333	A
pH 8	620503,66667	A
pH 6	589898	A, B
pH 10	565655,33333	A, B
pH 2	529771,66667	B

4

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

1

Tabela C-8: Estatística da seleção do pH para o Diuron.

ANOVA						
Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F	F crítico	valor-P
Entre grupos	1,14E+10	4	2,85E+09	6,196	3,478	0,00896
Dentro dos grupos	4,60E+09	10	4,60E+08			
Total	1,60E+10	14				

2

Comparação usando o teste de Tukey		
pH	pH	valor-P
	pH 4	0,0083
pH 2	pH 6	0,12
	pH 8	0,0213
	pH 10	0,4091
pH 4	pH 6	0,4506
	pH 8	0,9674
	pH 10	0,1359
pH 6	pH 8	0,7925
	pH 10	0,8941
pH 8	pH 10	0,3268

3

Análise de grupos significativos para pH com teste de Tukey		
pH	Média	Grupo
pH 4	476120,66667	A
pH 8	465153	A
pH 6	445513,33333	A, B
pH 10	429912,66667	A, B
pH 2	397852	B

4

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

1

Tabela C-9: Estatística da seleção do pH para a Indometacina.

ANOVA						
Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F	F crítico	valor-P
Entre grupos	2,05E+11	4	5,14E+10	80,68	3,478	<0.0001
Dentro dos grupos	6,37E+09	10	6,37E+08			
Total	2,12E+11	14				

2

Comparação usando o teste de Tukey		
pH	pH	valor-P
	pH 4	0,0355
pH 2	pH 6	<0.0001
	pH 8	<0.0001
	pH 10	<0.0001
pH 4	pH 6	<0.0001
	pH 8	<0.0001
	pH 10	0,0007
pH 6	pH 8	0,5806
	pH 10	0,0311
pH 8	pH 10	0,0033

3

Análise de grupos significativos para pH com teste de Tukey		
pH	Média	Grupo
pH 8	472144,33333	A
pH 6	441093,66667	A
pH 10	366969	B
pH 4	239237	C
pH 2	166886	D

4

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

1

Tabela C-10: Estatística da seleção do pH para o Naproxeno.

ANOVA						
Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F	F crítico	valor-P
Entre grupos	4,41E12	4	1,10E12	24,32	3,478	<0.0001
Dentro dos grupos	4,53E11	10	4,53E10			
Total	4,86E12	14				

2

Comparação usando o teste de Tukey		
pH	pH	valor-P
	pH 4	0,05399
pH 2	pH 6	0,00011
	pH 8	<0.0001
	pH 10	0,00215
pH 4	pH 6	0,00695
	pH 8	0,00256
	pH 10	0,26749
pH 6	pH 8	0,9526
	pH 10	0,18688
pH 8	pH 10	0,0655

3

Análise de grupos significativos para pH com teste de Tukey		
pH	Média	Grupo
pH 8	4000316,33333	A
pH 6	3879205,33333	A
pH 10	3458619,33333	A, B
pH 4	3082646,66667	B, C
pH 2	2519261,33333	C

4

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

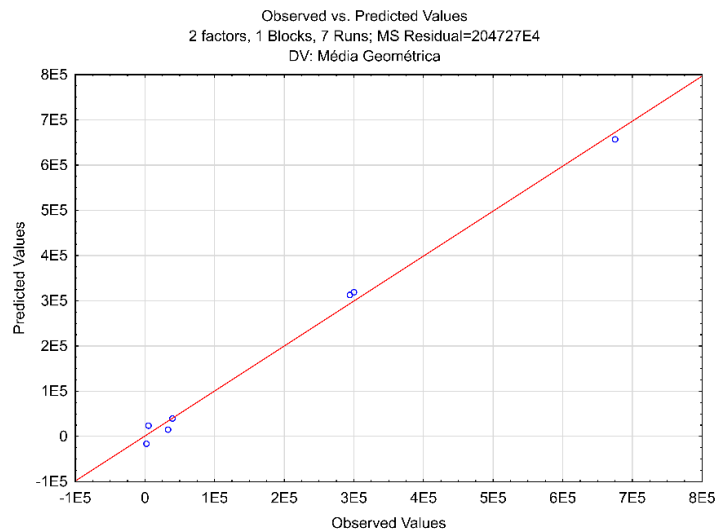
15

1 **APÊNDICE D – DADOS DOS TESTES ESTATÍSTICOS PARA A SELEÇÃO**
 2 **DOS CICLOS DE EXTRAÇÃO E SAL**

3 **Tabela D-1: Estatística da seleção dos ciclos de extração e sal.**

ANOVA					
Fator	SQ	gl	F	valor-P	R ²
Ciclos de Extração (L)	8,42E+10	1	41,11	0,0985	
Ciclos de Extração (Q)	8,30E+09	1	4,05	0,2934	
Porcentagem de Sal (L)	2,17E+11	1	105,86	0,0617	
Porcentagem de Sal (Q)	4,04E+10	1	19,72	0,1410	
Interação dos Fatores (L)	3,11E+10	1	15,21	0,1598	
Erro	2,05E+09	1			
Total	3,75E+11	6			0,9945

4
5 **Figura D-1: Gráfico de resíduos observados vs. preditos.**



6
7
8 **Figura D-2: Gráfico de pareto.**

