



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

Gabriela Pereira Mafra

**MICROEXTRAÇÃO EM GOTA ÚNICA PARALELA: UMA NOVA  
ESTRATÉGIA PARA SISTEMAS DE ALTA FREQUÊNCIA ANALÍTICA  
UTILIZANDO LÍQUIDOS IÔNICOS MAGNÉTICOS**

Florianópolis  
2021

Gabriela Pereira Mafra

**MICROEXTRAÇÃO EM GOTA ÚNICA PARALELA: UMA NOVA  
ESTRATÉGIA PARA SISTEMAS DE ALTA FREQUÊNCIA ANALÍTICA  
UTILIZANDO LÍQUIDOS IÔNICOS MAGNÉTICOS**

Tese submetida ao Programa de Pós Graduação  
em Química da Universidade Federal de Santa  
Catarina para a obtenção do título de doutora em  
química.

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Carasek da Rocha  
Coorientador: Prof. Dr. Josias de Oliveira Merib

Florianópolis

2021

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

Mafra, Gabriela

MICROEXTRAÇÃO EM GOTA ÚNICA PARALELA: : UMA NOVA  
ESTRATÉGIA PARA SISTEMAS DE ALTA FREQUÊNCIA ANALÍTICA  
UTILIZANDO LÍQUIDOS IÔNICOS MAGNÉTICOS / Gabriela Mafra ;  
orientador, Eduardo Carasek da Rocha, coorientador,  
Josias de Oliveira Merib , 2021.

115 p.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa  
Catarina, Centro de Ciências Físicas e Matemáticas,  
Programa de Pós-Graduação em Química, Florianópolis, 2021.

Inclui referências.

1. Química. I. Carasek da Rocha, Eduardo . II. de  
Oliveira Merib , Josias. III. Universidade Federal de  
Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Química. IV.  
Título.

Gabriela Pereira Mafra

**MICROEXTRAÇÃO EM GOTA ÚNICA PARALELA: UMA NOVA  
ESTRATÉGIA PARA SISTEMAS DE ALTA FREQUÊNCIA ANALÍTICA  
UTILIZANDO LÍQUIDOS IÔNICOS MAGNÉTICOS**

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

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Claudia Alcaraz Zini  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Adriana Neves Dias  
Instituto Federal Catarinense (IFC)

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Tatiane de Andrade Maranhão  
Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC)

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Sarah Carobini Werner de Souza Eller Franco de Oliveira  
Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA)

Prof. Dr. Josias Oliveira Merib  
Coorientador  
Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA)

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

---

Prof. Dr. Marcus Mandolesi Sá  
Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Química

---

Prof. Dr. Eduardo Carasek da Rocha  
Orientador

Florianópolis  
2021

Este trabalho é dedicado aos meus avós Lia e Cide.

*Ora, lege, lege, lege, relege, labora et invenies.*  
Mutus Liber

## RESUMO

Neste trabalho foram desenvolvidas metodologias de fácil operação e alto rendimento baseadas numa nova abordagem para a microextração em gota única (SDME), denominada microextração em gota única paralela (Pa-SDME). Pela primeira vez, foram combinadas as propriedades magnéticas, a estabilidade da gota e a capacidade de extração do líquido iônico magnético (MIL) tetracloromanganato (II) de trihexil(tetradecil)fosfônio, quando acoplado a um sistema de *96-well plate*, visando aumentar a frequência analítica através de um aparelho de baixo custo capaz de auxiliar na extração de uma série de amostras simultaneamente. A nova técnica Pa-SDME/MIL compreende um sistema de *96-well plate* contendo um conjunto de pinos magnéticos que ajudam na estabilização das gotas de solvente e permitem a extração de até 96 amostras paralelamente. Os MILs vêm sendo propostos como uma nova classe de solventes de extração promissores e oferecem uma série de vantagens frente aos solventes de extração convencionalmente utilizados em SDME. Esses compostos são produzidos incorporando um componente paramagnético na sua estrutura e exibem uma forte resposta ao campo magnético externo. Possuem propriedades físico-químicas únicas que melhoram o desempenho da metodologia analítica com ganhos na seletividade, sensibilidade, precisão e exatidão do método. Em um primeiro estudo, a Pa-SDME/MIL foi utilizada para a determinação dos compostos desreguladores endócrinos metilparabeno, etilparabeno, propilparabeno, bisfenol A, butilparabeno, benzofenona e triclocarban em amostras aquosas ambientais por HPLC-DAD. As condições de extração para o novo método foram otimizadas através de estratégias uni e multivariadas bem como os principais parâmetros analíticos de mérito do método foram validados. As condições ótimas de extração compreenderam  $5,38 \pm 0,55$  mg ( $n = 10$ ) do MIL  $[P_{6,6,6,14}^+]_2[MnCl_4^{2-}]$  como solvente extrator, um volume de amostra de 1,5 mL em pH 6 e tempo de extração de 90 min, seguido por diluição do extrato em 20  $\mu$ L de acetonitrila. Resultados satisfatórios dos principais parâmetros de mérito foram alcançados, com LODs variando de 1,5 a 3  $\mu$ g L<sup>-1</sup> e R<sup>2</sup> superiores a 0,994. As precisões intradia e interdia variaram de 0,6 a 21,3 % ( $n=3$ ) e de 10,4 a 20,2 % ( $n=9$ ), respectivamente, com recuperações relativas variando entre 63% e 126%. Em um segundo estudo, a aplicação da técnica Pa-SDME/MIL foi eficazmente ampliada para a determinação dos agrotóxicos tebuconazol, pendimetalina, diclorodifenildicloroetileno (DDE) e diclorodifeniltricloroetano (DDT) em uma matriz de grande interesse bioanalítico, a urina humana. Sob condições otimizadas que consistiram em 10  $\mu$ L do solvente extrator  $[P_{6,6,6,14}^+]_2[MnCl_4^{2-}]$ , 1,5 mL de amostra de urina diluída (1:10), 130 min de tempo de extração e diluição do extrato com 20  $\mu$ L de acetonitrila, o método exibiu satisfatória performance analítica, com valores de LODs de 7,5  $\mu$ g L<sup>-1</sup> e R<sup>2</sup> maiores que 0,9955 para todos os analitos. Precisão intradia e interdia variaram de 3 a 17 % ( $n = 3$ ) e 15 a 18 % ( $n = 9$ ), respectivamente, com recuperações relativas variando entre 70 e 122 %. Os resultados obtidos em ambas as metodologias demonstram que a nova abordagem de Pa-SDME/MIL exibe uma série de vantagens sobre a SDME convencional, principalmente com relação à estabilidade da gota facilitada pelo uso dos MILs e aumento da frequência analítica do método devido à utilização do sistema de *96-well plate*. Além disso, os aspectos ambientalmente amigáveis da técnica foram evidenciados pela substituição de solventes tóxicos, baixo consumo de amostra e solvente e alta frequência analítica, que possibilitam o uso da Pa-SDME como uma ferramenta valiosa em diversas aplicações.

**Palavras-chave:** líquidos iônicos magnéticos, Pa-SDME, *96-well plate*, preparo de amostra, compostos desreguladores endócrinos, agrotóxicos, água, urina, HPLC-DAD.

## ABSTRACT

In this work was developed a simple workflow and high-throughput methodologies of based on a new approach to single drop microextraction (SDME), named parallel single drop microextraction (Pa-SDME) which combines, for the first time, the magnetic properties, drop stability, and extraction capacity of the trihexyl(tetradecyl)phosphonium tetrachloromanganate (II) ( $[P_{6,6,6,14}^+][MnCl_4^{2-}]$ ) MIL when coupled with a 96-well plate to facilitate high-throughput analysis by producing a low-cost apparatus capable of analyzing a series of samples simultaneously. This experimental setup comprised of a 96-well plate system containing a set of magnetic pins which aided in stabilizing the MIL drops and enabled the simultaneous extraction of up to 96 samples. MILs have been purposed as a new promising class of extraction solvents and provide a series of advantages over the conventional solvents used in SDME. MILs are produced by incorporating a paramagnetic component in the IL structure and exhibit a strong response to an external magnetic field. They have unique physical-chemical properties, improving the analytical performance of the methodology with gains in selectivity, sensitivity, precision and accuracy of the method. In a first study, Pa-SDME/MIL using the  $[P_{6,6,6,14}^+][MnCl_4^{2-}]$  magnetic ionic liquid (MIL) as extraction phase is demonstrated in the determination of methylparaben, ethylparaben, propylparaben, bisphenol A, butylparaben, benzophenone and triclocarban from environmental aqueous samples by HPLC-DAD. Experimental conditions were carefully optimized using one-factor-at-a-time and multivariate designs as well as the main analytical figures of merit of the proposed method were assessed. The optimal conditions employed  $5.38 \pm 0.55$  mg ( $n = 10$ ) of MIL, a sample volume of 1.5 mL at pH 6, and dilution in 20  $\mu$ L of acetonitrile. The analytical parameters of merit were determined under the optimized conditions and highly satisfactory results were achieved, with LODs ranging from 1.5 to 3  $\mu$ g L<sup>-1</sup> and coefficients of determination higher than 0.994. Intraday and interday precision ranged from 0.6 to 21.3 % ( $n=3$ ) and 10.4 to 20.2 % ( $n=9$ ), respectively, with analyte relative recovery in three aqueous samples ranging between 63% to 126%. In a second study, the developed technique was successfully expanded for the determination of the pesticides tebuconazole, pendimethalin, dichlorodiphenyldichloroethylene (DDE) and dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT) in a matrix of a great bioanalytical interest, the human urine. The optimal conditions employed 10  $\mu$ L of extraction solvent, 1.5 mL of diluted urine samples (1:10), extraction time of 130 min and subsequent dilution in 20  $\mu$ L of acetonitrile. The method exhibited satisfactory analytical performance, with limits of detection of 7.5  $\mu$ g L<sup>-1</sup> for all analytes and coefficients of determination higher than 0.9955. Intraday and interday precisions ranged from 3% to 17% ( $n = 3$ ) and 15% to 18% ( $n = 9$ ), respectively, with relative recovery of analytes ranging from 70% to 122%. The results obtained for both methodologies demonstrate that the methodology provided a considerable enhancement of the conventional SDME approach, particularly regarding the droplet stability achieved with MILs and the analysis throughput thanks to the 96-well plate system. In addition, the environmentally friendly aspects of the technique were confirmed by the substitution of toxic organic solvents, small sample/solvent consumption and high-throughput sample preparation allowing the Pa-SDME methodology to be explored as a valuable tool in several applications.

**Keywords:** magnetic ionic liquids, Pa-SDME, 96-well plate, sample preparation, endocrine disrupting compounds, pesticides, water, urine, HPLC-DAD.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> - Esquema representando a microextração em gota única no modo de imersão direta (A) e no modo headspace (B).....	22
<b>Figura 2</b> - Geometrias dos principais ILs de fosfônio no estado fundamental.....	28
<b>Figura 3</b> – Efeito de um ímã de Neodímio no MIL [EMIM][Fe(EDTA)] em n-heptano. ....	30
<b>Figura 4</b> – Principais cátions utilizados em MILs: (a) [Emim], (b) [Bmim], (c) [P <sub>6,6,6,14</sub> ], (d) [choline] e (e) [Aliquat® 336].....	31
<b>Figura 5</b> - Estrutura dos principais MILs a base do cátion trihexiltetradecilfosfônio [P <sub>66614</sub> <sup>+</sup> ].....	32
<b>Figura 6</b> – A) [P <sub>6,6,6,14</sub> <sup>+</sup> ] <sub>2</sub> [MnCl <sub>4</sub> <sup>2-</sup> ] (esquerda), [P <sub>6,6,6,14</sub> <sup>+</sup> ][Ni(II)(hfacac) <sub>3</sub> <sup>-</sup> ] (meio) e [P <sub>6,6,6,14</sub> <sup>+</sup> ][Nd(III)(hfacac) <sub>4</sub> <sup>-</sup> ] (direita) antes e B) após 1 segundo de inversão. Valores de viscosidade a 25 °C: 75230, 927,9 e 299,4 cP, respectivamente.....	34
<b>Figura 7</b> - Constituintes de um sistema 96-well plate para preparo de até 96 amostras. (A) poços para colocação das amostras (geralmente 1,5 mL de capacidade); (B) pente metálico para a colocação da fase extratora; (C) sistema utilizado para a extração .....	45
<b>Figura 8</b> – Dispositivo autoamostrador Concept 96 (Professional Analytical Systems (PAS) Technology, Magdala, Germany).....	46
<b>Figura 9</b> – Materiais utilizados para a preparação do pente de extração adaptado com ímãs de neodímio. ....	55
<b>Figura 10</b> - Esquema do procedimento de extração SDME/MIL. ....	57
<b>Figura 11</b> - Fotos dos três pontos de coleta das amostras de água. ....	59
<b>Figura 12</b> – Pontos de coleta das amostras de água de (1) lago, (2) córrego e (3) mangue nas proximidades da Universidade Federal de Santa Catarina.....	59
<b>Figura 13</b> - Espectro de UV-Vis a 70 mg mL <sup>-1</sup> do A) IL [Aliquat <sup>+</sup> ][Cl <sup>-</sup> ] e do B) MIL [Aliquat <sup>+</sup> ] <sub>2</sub> [MnCl <sub>4</sub> <sup>2-</sup> ] em acetonitrila. ....	60
<b>Figura 14</b> – Espectro de UV-Vis a 250 mg mL <sup>-1</sup> do A) IL [P <sub>6,6,6,14</sub> <sup>+</sup> ][Cl <sup>-</sup> ] e do B) MIL [P <sub>6,6,6,14</sub> <sup>+</sup> ] <sub>2</sub> [MnCl <sub>4</sub> <sup>2-</sup> ] em acetonitrila. ....	60
<b>Figura 15</b> - Magnetização dos MILs A) [Aliquat <sup>+</sup> ] <sub>2</sub> [MnCl <sub>4</sub> <sup>2-</sup> ] e B) [P <sub>6,6,6,14</sub> <sup>+</sup> ] <sub>2</sub> [MnCl <sub>4</sub> <sup>2-</sup> ] medida à 295,15 K. ....	61
<b>Figura 16</b> - Escolha do MIL [P <sub>6,6,6,14</sub> <sup>+</sup> ] <sub>2</sub> [MnCl <sub>4</sub> <sup>2-</sup> ] Vs [Aliquat <sup>+</sup> ] <sub>2</sub> [MnCl <sub>4</sub> <sup>2-</sup> ].....	62
<b>Figura 17</b> - Superfície de resposta com R <sup>2</sup> = 0,8307 obtida pelo planejamento Doehlert para otimização de pH da amostra e tempo de extração. ....	64

<b>Figura 18</b> - Volume de acetonitrila para a dissolução do MIL. ....	65
<b>Figura 19</b> - Cromatogramas obtidos após a extração por SDME/MIL e determinação por HPLC-DAD para amostras de águas de lago (azul), córrego (verde) e mangue (rosa) e amostra fortificada com 50 µg L <sup>-1</sup> dos analitos (vermelho) monitorados em 265 nm. Ordem de eluição: 1, metilparabeno; 2, etilparabeno; 3, propilparabeno; 4, bisfenol A; 5, butilparabeno; 6, benzofenona; 7, triclocarban. ....	69
<b>Figura 20</b> - Esquema do procedimento de extração Pa-SDME/MIL. ....	80
<b>Figura 21</b> – Comparação da eficiência de extração dos MILs [P <sub>6,6,6,14</sub> <sup>+</sup> ] <sub>2</sub> [MnCl <sub>4</sub> <sup>2-</sup> ] e [Aliquat <sup>+</sup> ] <sub>2</sub> [MnCl <sub>4</sub> <sup>2-</sup> ]. ....	82
<b>Figura 22</b> – Otimização univariada da diluição da urina para o método Pa-SDME/MIL. ....	83
<b>Figura 23</b> – Superfície de resposta obtida pelo planejamento Doehlert para otimização do tempo de extração e adição de sal (R <sup>2</sup> = 0,8877). ....	84
<b>Figura 24</b> – Cromatogramas obtidos por HPLC-DAD a 235 nm para a amostra A (vermelho) e urina fortificada com 150 ppm de cada analito (preto) utilizando a metodologia proposta. Ordem de eluição: 1- TBZ, 2- PDM, 3- DDD, 4- DDT. ....	88

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> – Valores para temperatura de ebulição ( $T_{eb}$ ), densidade ( $\rho$ ), viscosidade ( $\eta$ ), tensão superficial ( $\gamma$ ), pressão de vapor ( $P_v$ ), solubilidade, $\text{Log}K_{ow}$ e ranking de risco ambiental dos principais solventes utilizados em modos SME. ....	26
<b>Tabela 2</b> – Propriedades físico-químicas dos MILs. ....	33
<b>Tabela 3</b> - Aplicações analíticas envolvendo líquidos iônicos magnéticos (MILs) em técnicas de microextração com solvente (SME). ....	37
<b>Tabela 4</b> - Estruturas químicas e propriedades físico-químicas dos analitos estudados. ....	52
<b>Tabela 5</b> - Modo gradiente otimizado para a separação por HPLC-DAD com vazão de 1 mL min <sup>-1</sup> . ....	54
<b>Tabela 6</b> - Planejamento Doehlert para a otimização de tempo de extração e pH da amostra. ....	56
<b>Tabela 7</b> – Resumo das condições experimentais em cada etapa do procedimento de extração. ....	57
<b>Tabela 8</b> - ANOVA referente ao planejamento Doehlert para otimização de pH e tempo de extração. ....	64
<b>Tabela 9</b> - Parâmetros analíticos de mérito do método SDME/MIL proposto usando o MIL $[\text{P}_{6,6,6,14}^+]_2[\text{MnCl}_4^{2-}]$ . ....	67
<b>Tabela 10</b> - Recuperações relativas e RSD% dos analitos para as amostras 1, 2 e 3 (n=3).....	68
<b>Tabela 11</b> - Comparação do método desenvolvido com outros reportados na literatura que utilizam fases extratoras magnéticas para determinação dos compostos estudados em matrizes aquosas.....	70
<b>Tabela 12</b> – Estruturas químicas e propriedades físico-químicas dos analitos. ....	76
<b>Tabela 13</b> - Modo gradiente otimizado para a separação por HPLC-DAD com vazão de 1 mL min <sup>-1</sup> . ....	77
<b>Tabela 14</b> - Planejamento Doehlert para a otimização de tempo de extração e concentração de NaCl da amostra. ....	79
<b>Tabela 15</b> – Resumo das condições experimentais em cada etapa do procedimento de extração. ....	80
<b>Tabela 16</b> - ANOVA referente ao planejamento Doehlert para otimização tempo de extração e adição de sal.....	84

<b>Tabela 17-</b> Parâmetros analíticos de mérito do método Pa-SDME/MIL utilizando o MIL $[P_{6,6,6,14}^+]_2[MnCl_4^{2-}]$ como solvente de extração. ....	86
<b>Tabela 18 -</b> Recuperações relativas e RSD dos analitos para as amostras A e B (n=3).	87
<b>Tabela 19 –</b> Comparação do método desenvolvido com outros reportados na literatura. ....	90

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA – Análise de variância

ACN – Acetonitrila

AOAC – Associação Oficial dos Químicos Analíticos, do inglês *Association of Official Analytical Chemists*

BP – Butilparabeno

BPA – Bisfenol A

BzP – Benzofenona

DDE – Extração em Gotas Dispersivas, do inglês *Dispersive Droplet Extraction*

DDE – Diclorodifenildicloroetileno

DDLE - Extração Líquido-Líquido Dispersiva, do inglês *Dispersive Liquid-Liquid Extraction*

DDT - Diclorodifeniltricloroetileno

DG-SANTE - Direção Geral da Saúde e Segurança Alimentar da União Européia

DI - Imersão direta, do inglês *Direct Immersion*

DLLME – Microextração Líquido-Líquido Dispersiva, do inglês *Dispersive Liquid-Liquid Microextraction*

DMSPE – Extração em fase sólida magnética dispersiva, do inglês *Dispersive Magnetic Solid Phase Extraction*

EDC – Compostos Desreguladores Endócrinos, do inglês *Endocrine Disrupting Chemicals*

EFSA - Autoridade Européia de Segurança Alimentar, do inglês *European Food Safety Authority*

EP – Etilparabeno

ETA-MILs-ME – Microextração com Pastilhas Efervescentes baseada em Líquidos Iônicos Magnéticos, do inglês *Effervescence Tablet-Assisted Magnetic Ionic Liquids-Based Microextraction*

GC-ECD – Cromatografia Gasosa com Detector de Captura de Elétrons, do inglês *Gas Chromatography-Electron Capture Detector*

GC-MS - Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas, do inglês *Gas Chromatography with Mass Spectrometry*

GLME-MA-d-SPE - Microextração Gás-Líquido Acoplada com Extração Magnética de Fase Sólida Dispersiva, do inglês *Gas-Liquid Microextraction coupled to Magnetic Assisted Dispersive Solid Phase Extraction*

IL – Líquido Iônico, do inglês *Ionic Liquid*

HF-LPME – Microextração em Fase Líquida com Membrana Oca, do inglês *Hollow Fiber – Liquid Phase Microextraction*

HPLC - DAD Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com Detector por Arranjo de Diodos, do inglês *High-Performance Liquid Chromatography with Diode Array Detection*

HS – do inglês *Headspace*

LLE - Extração Líquido-Líquido, do inglês *Liquid-Liquid Extraction*

LPME - Microextração em Fase Líquida, do inglês *Liquid Phase Microextraction*

LOD - Limite de Detecção, do inglês *Limit of Detection*

LOQ - Limite de Quantificação, do inglês *Limit of Quantification*

MeOH – Metanol

MIL - Líquido Iônico Magnético, do inglês *Magnetic Ionic Liquid*

MILATPs – Sistema Aquoso Bifásico com Líquido Iônico Magnético, do inglês *Magnetic Ionic Liquid Aqueous Two-Phase System*

MP – Metilparabeno

Pa-EME – Extração com Eletromembrana Paralela, do inglês *Parallel Electromembrane Extraction*

PALME – Extração Paralela em Membranas Artificiais Líquidas, do inglês *Parallel Artificial Liquid Membrane Extraction*

PDM - Pendimetalina

PIL - Líquido Iônico Polimérico, do inglês *Polymeric Ionic Liquid*

PP – Propilparabeno

QuEChERS – Rápido, Fácil, Barato, Efetivo, Robusto e Seguro, do inglês *Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe*

R<sup>2</sup> – Coeficiente de Determinação

SADBME -Microextração de rompimento de gota assistida por agitação, do inglês *Stirring-Assisted Drop-Breakup Microextraction*

SBDLME – Microextração Líquido Dispersiva em Barra de Agitação, do inglês *Stirring-Bar Dispersive Liquid Microextraction*

SDME - Microextração em Gota Única, do inglês *Single Drop Microextraction*

SDE – Extração Dispersiva em Fase Sólida, do inglês *Solid Dispersive Extraction*

SME - Microextração com Solvente, do inglês *Solvent Microextraction*

SPE - Extração em Fase Sólida, do inglês *Solid Phase Extraction*

SPME - Microextração em Fase Sólida, do inglês *Solid Phase Microextraction*

TBZ - Tebuconazol

TCC – Triclocarban

TFLC–LC–MS/MS – Cromatografia Líquida em Fluxo Turbulento seguida por Cromatografia Líquida acoplada à Espectrometria de Massas Triplo Quadrupolo, do inglês *Turbulent-Flow Liquid Chromatography followed by Liquid Chromatography Triple Quadrupole Mass Spectrometry*

TF-SPME - Microextração em fase sólida com filme fino, do inglês *Thin Film -Solid Phase Microextraction*

UASEME – Microextração de Emulsificação aprimorada por Surfactante Assistida por Ultrassom do inglês *Ultrasound-Assisted Surfactant-Enhanced Emulsification Microextraction*

VALLME - Microextração Líquido-Líquido assistida por Vórtex, do inglês *Vortex-Assisted Liquid-Liquid Microextraction*

VSM – Magnetômetro de Amostra Vibrante, do inglês *Vibrating Sample Magnetometer*

## SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO I - INTRODUÇÃO .....</b>	<b>17</b>
<b>CAPÍTULO II - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>19</b>
2.1.    PREPARO DE AMOSTRA EM QUÍMICA ANALÍTICA.....	19
2.2.    TÉCNICAS DE MICROEXTRAÇÃO COM SOLVENTE .....	20
<b>2.2.1.    Microextração em gota única (SDME).....</b>	<b>21</b>
2.3.    LÍQUIDOS IÔNICOS COMO SOLVENTES EXTRATORES.....	27
<b>2.3.1.    Líquidos iônicos magnéticos (MILs).....</b>	<b>29</b>
2.4.    EXTRAÇÕES PARALELAS NO SISTEMA 96-WELL PLATE .....	45
<b>CAPÍTULO III - OBJETIVOS.....</b>	<b>48</b>
3.1.    OBJETIVO GERAL .....	48
3.2.    OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	48
<b>CAPÍTULO IV .....</b>	<b>49</b>
<b>DESENVOLVIMENTO DE UMA METODOLOGIA ANALÍTICA BASEADA NA PA-SDME/MIL ACOPLADA AO SISTEMA DE “96- WELL PLATE” PARA DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS DESREGULADORES ENDÓCRINOS EM AMOSTRAS AQUOSAS AMBIENTAIS.....</b>	<b>49</b>
4.1.    INTRODUÇÃO .....	49
4.2.    PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL.....	53
<b>4.2.1.    Reagentes e soluções.....</b>	<b>53</b>
<b>4.2.2.    Preparo e caracterização das fases extratoras compostas por MILs</b>	<b>53</b>
<b>4.2.3.    Instrumentação.....</b>	<b>53</b>
<b>4.2.4.    Preparação do sistema de 96-well plate magnético .....</b>	<b>54</b>
<b>4.2.5.    Otimização do procedimento de Pa-SDME/MIL .....</b>	<b>55</b>
<b>4.2.6.    Preparo de amostra otimizado .....</b>	<b>56</b>
<b>4.2.7.    Parâmetros analíticos de mérito e aplicação em amostras aquosas                   ambientais .....</b>	<b>57</b>
4.3.    RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	60

4.3.1.	Caracterização dos MILs .....	60
4.3.2.	Comparação entre as eficiências de extração dos líquidos iônicos magnéticos.....	62
4.3.3.	Avaliação do pH da amostra e tempo de extração .....	63
4.3.4.	Avaliação do volume de solvente de dissolução .....	65
4.3.5.	Parâmetros analíticos de mérito e aplicação do método.....	66
4.3.6.	Comparação do método com outros descritos na literatura .....	69
4.4.	CONCLUSÕES PARCIAIS .....	71
<b>CAPÍTULO V.....</b>		<b>73</b>
<b>AMPLIANDO A APLICABILIDADE DA TÉCNICA PA-SDME/MIL PARA A DETERMINAÇÃO DE AGROTÓXICOS EM URINA HUMANA .....</b>		<b>73</b>
5.1.	INTRODUÇÃO .....	73
5.2.	PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL .....	76
5.2.1.	Reagentes e soluções.....	76
5.2.2.	Preparo das fases extratoras compostas por MILs.....	77
5.2.3.	Instrumentação.....	77
5.2.4.	Otimização das condições experimentais .....	78
5.2.5.	Procedimento otimizado da Pa-SDME/MIL .....	79
5.2.6.	Parâmetros analíticos de mérito e aplicação do método.....	80
5.3.	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	81
5.3.1.	Escolha do solvente extrator .....	81
5.3.2.	Avaliação da diluição da urina.....	82
5.3.3.	Otimização multivariada de tempo de extração e adição de sal .....	83
5.3.4.	Parâmetros analíticos de mérito e aplicação do método.....	85
5.3.5.	Comparação da metodologia desenvolvida.....	88
5.4.	CONCLUSÕES PARCIAIS .....	91
<b>CAPÍTULO VI – CONCLUSÃO FINAL E PERSPECTIVAS .....</b>		<b>92</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>		<b>94</b>

<b>ANEXO I – Cálculo estequiométrico para a síntese de [P6,6,6,14+]2[MnCl4-2] ..</b>	<b>111</b>
<b>ANEXO II - Superfícies de resposta obtidas a partir do planejamento Doehlert referentes à Figura 16, avaliando cada analito individualmente.....</b>	<b>112</b>
<b>ANEXO III - Superfícies de resposta obtidas a partir do planejamento Doehlert referentes à Figura 22, avaliando cada analito individualmente.....</b>	<b>113</b>

## CAPÍTULO I - INTRODUÇÃO

Atualmente, o preparo de amostra é uma das áreas mais estudadas em Química Analítica, especialmente na análise de traços e ultra traços, onde geralmente etapas de pré-concentração de analitos e limpeza da amostra são indispensáveis. Nesse sentido, as técnicas de extração exercem um papel fundamental, pois promovem a remoção dos interferentes, a pré-concentração dos analitos e aumento da sensibilidade.

As tradicionais abordagens de extração líquido-líquido (LLE) e extração em fase sólida (SPE) são amplamente utilizadas e conhecidas, contudo, podem ser tediosas, demoradas e consumirem grandes quantidades de solventes orgânicos.

Avanços na pesquisa e o desenvolvimento das inovadoras abordagens de microextração possibilitaram atingir melhores fatores de enriquecimento e isolamento dos analitos em uma única etapa marcando a década de 1990 e revolucionando o modo de se fazer o preparo de amostra. Desde então, vários trabalhos foram desenvolvidos envolvendo as técnicas de microextração, sendo que as técnicas de microextração com solvente (SME) representam grande parte dessas aplicações.

A microextração em gota única (SDME) foi o primeiro modo de microextração em fase líquida de uso prático. Envolve a introdução de alguns microlitros de um solvente extrator, na forma de uma única gota, diretamente na amostra ou exposta em seu *headspace*. Possui uma série de vantagens como grande capacidade de extração, facilidade de modificação da técnica, possibilidade de injeção direta em instrumentos de análise, baixo custo e eliminação de efeitos de memória.

Modificações das abordagens SME voltadas à síntese e seleção de solventes de extração mais adequados e estáveis, que propiciem alto rendimento e eficiente determinação dos analitos, minimizando o impacto ao meio ambiente, são um grande desafio. Nesse sentido, os líquidos iônicos (ILs) foram propostos como uma nova classe de solventes de extração promissores e oferecem uma série de vantagens frente aos solventes de extração convencionais.

Particularmente, uma subclasse interessante de ILs, chamada de líquidos iônicos magnéticos (MILs), vem sendo explorada em uma série de aplicações analíticas. Esses compostos são produzidos incorporando-se um componente paramagnético na sua estrutura e exibem uma forte resposta ao campo magnético externo. Possuem

propriedades físico-químicas únicas, que melhoram o desempenho da metodologia analítica com ganhos na seletividade, sensibilidade, precisão e exatidão do método.

Diversas aplicações biológicas e ambientais lidam com um número muito grande de amostras e a análise manual dessas amostras em uma sequência linear seria impraticável. Melhorar a frequência analítica é, portanto, vital para obtenção de métodos rápidos de preparo de amostra, tanto em análise de rotina, quanto no desenvolvimento de metodologias. Muitas técnicas miniaturizadas de preparo de amostras podem ser automatizadas ou semi-automatizadas, e estratégias que possibilitem a extração de múltiplas amostras em paralelo e aumentem a reprodutibilidade do processo de extração são altamente desejáveis.

Tendo em vista a necessidade atual de metodologias analíticas de fácil operação e que processem uma grande quantidade de amostra simultaneamente, a proposta desse trabalho é, portanto, desenvolver metodologias analíticas rápidas e inovadoras baseadas na técnica denominada microextração em gota única paralela (Pa-SDME), utilizando pela primeira vez, o sistema semi-automatizado de amostragem com 96 poços de extração adaptado para viabilizar extrações com MILs na determinação de compostos desreguladores endócrinos em amostras aquosas ambientais e agrotóxicos em urina humana.

## CAPÍTULO II - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. PREPARO DE AMOSTRA EM QUÍMICA ANALÍTICA

O desenvolvimento de metodologias capazes de quantificar analitos em matrizes de diferentes graus de complexidade é um dos grandes desafios na química analítica (CARASEK; MORÉS; MERIB, 2018). Há uma crescente demanda por métodos analíticos que permitam a determinação rápida e precisa de variadas classes de compostos orgânicos encontrados em concentrações traço nas matrizes ambientais e biológicas (HASHEMI *et al.*, 2017). Entretanto, a análise de matrizes na sua forma bruta é raramente praticada, devido à presença de interferentes e incompatibilidades com os equipamentos analíticos. Nesses casos, procedimentos de preparo de amostra são necessários para isolar e concentrar os analitos a níveis adequados e obter um grau de limpeza da amostra de modo a não comprometer sua análise química (YAMINI; REZAZADEH; SEIDI, 2019).

O preparo de amostra é considerado a etapa crucial de uma análise quantitativa devido ao risco de perda de analitos, contaminação da amostra, além do longo tempo demandado. Dessa forma, a técnica de preparo de amostra deve ser escolhida considerando-se diversas características dos componentes da amostra (analitos, matriz e interferentes), como polaridade, solubilidade e estabilidade química e térmica, de modo a promover uma eficiente transferência de massa dos analitos em sistemas multifásicos e, assim, garantir o sucesso da análise química (CARASEK; MERIB, 2015).

Os métodos tradicionais de preparo de amostra, como a extração líquido-líquido (LLE, do inglês *Liquid-Liquid Extraction*) e a extração em fase sólida (SPE, do inglês *Solid Phase Extraction*), são amplamente utilizados e rotineiramente aceitos por muitas organizações internacionais e laboratórios credenciados. Ambos os métodos estão bem documentados e definidos, no entanto, possuem limitações para aplicações diretamente no local da amostragem, denominada *on-site*, em animais vivos, denominada *in vivo*, e em matrizes complexas, além de estarem associados a um maior risco de operação devido a excessiva manipulação, utilização de solventes tóxicos e grande geração de resíduos. A química analítica moderna tem sido direcionada para a simplificação, miniaturização e automatização dos sistemas analíticos, minimizando o consumo de solvente orgânico e volume da amostra, com vistas a alcançar os conceitos da Química Analítica verde (BOYACI *et al.*, 2015).

As últimas décadas foram de grande contribuição e importância em relação ao desenvolvimento e aperfeiçoamento de diversas técnicas miniaturizadas de extração. Notáveis técnicas, como a microextração em fase sólida (SPME, do inglês *Solid Phase Microextraction*), desenvolvida por Arthur e Pawliszyn em 1990 (ARTHUR; PAWLISZYN, 1990), e os primeiros trabalhos sobre a microextração em fase líquida (LPME, do inglês *Liquid Phase Microextraction*) introduzidos por Dasgupta (LIU, H.; DASGUPTA, 1996) e Cantwell (JEANNOT; CANTWELL, 1997) foram desenvolvidos.

Essas técnicas de enriquecimento associam simultaneamente a microextração e a pré-concentração dos analitos; reduzem a manipulação e, conseqüentemente, o tempo global requerido para o preparo de amostra; são indicadas para serem combinadas com a grande sensibilidade da atual instrumentação analítica (KIRCHMANN; PETTERSSON, 1994). Dentre tantas técnicas de preparo de amostra atualmente existentes, as técnicas de microextração com solvente, caracterizadas por utilizar uma pequena quantidade de solvente para a extração e isolamento de analitos, serão abordadas nesse trabalho (KOKOSA, 2017).

## 2.2.TÉCNICAS DE MICROEXTRAÇÃO COM SOLVENTE

Técnicas de microextração com solvente (SME, do inglês *Solvent Microextraction*), também chamadas de microextração em fase líquida (LPME, do inglês *Liquid Phase Microextraction*), são essencialmente uma versão miniaturizada das tradicionais extrações líquido-líquido, contudo, os analitos são extraídos e pré-concentrados de amostras gasosas, líquidas ou sólidas para um pequeno volume (inferior a 100 µL) de solvente imiscível em água. As técnicas SME eliminam as principais limitações da clássica LLE, como elevado custo associado à utilização de grande quantidade de solventes com alto grau de pureza, formação de emulsões e tempos longos de extração (PRZYJAZNY, 2019). As técnicas SME são utilizadas para extração, purificação e pré-concentração de analitos com diferentes características, voláteis e não-voláteis, ampla faixa de polaridades e até mesmo compostos iônicos e metais. A SME pode ser hifenada a outras técnicas de preparo de amostra, como a SPE, quando uma melhor limpeza da amostra for necessária (KOKOSA, 2013).

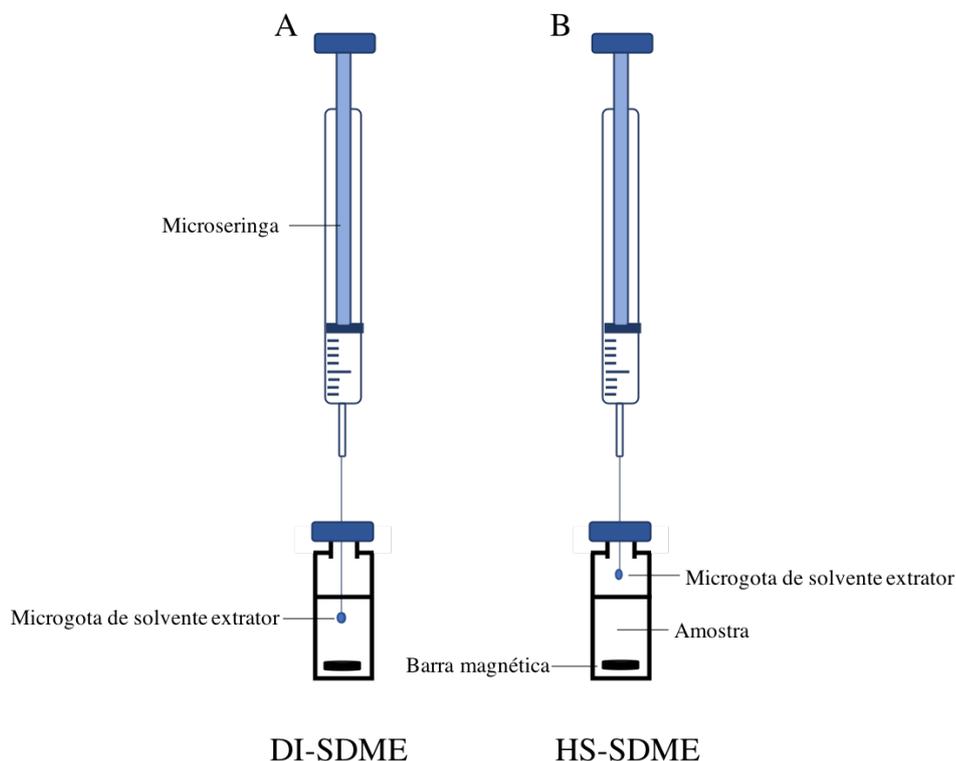
As técnicas SME possuem diferentes métodos de operação, sendo classificadas em três principais categorias:

- a. Microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME, do inglês *Dispersive Liquid-Liquid Microextraction*): baseia-se na dispersão de um solvente extrator (imiscível com água) e um solvente dispersor (miscível em água e no solvente extrator) em uma solução aquosa, o que proporciona uma grande área de contato entre as fases aquosa e orgânica (REZAEE *et al.*, 2006).
- b. Microextração em fase líquida protegida com fibra oca (HF-LPME, do inglês *Hollow Fiber-Liquid Phase Microextraction*): Os analitos são primeiramente extraídos para uma membrana líquida suportada (SLM) recoberta por um solvente orgânico de extração, o qual preenche também os poros da membrana capilar hidrofóbica (fibra oca). O interior da membrana (lúmen) pode ser preenchido com microlitros de uma fase receptora aquosa (modo trifásico), ou pelo próprio solvente de extração (modo bifásico) (PEDERSEN-BJERGAARD; RASMUSSEN, 2008).
- c. Microextração em gota única (SDME, do inglês *Single Drop Microextraction*): uma gota de solvente extrator imiscível com a amostra é colocada diretamente em contato com a amostra ou no seu *headspace* (JEANNOT; CANTWELL, 1997). Essa abordagem será estudada nesse trabalho e uma seção sobre teoria e aplicações da SDME está descrita a seguir.

### **2.2.1. Microextração em gota única (SDME)**

A SDME foi a primeira técnica de microextração com solvente desenvolvida e emergiu na década de 1990 como uma das formas mais simples e mais facilmente implementadas de limpeza e pré-concentração de amostras em microescala (JEANNOT; PRZYJAZNY; KOKOSA, 2010). A SDME consiste basicamente na colocação de uma pequena quantidade de solvente extrator (imiscível na amostra) em uma microseringa e sua exposição, na forma de uma microgota, é feita em imersão direta na amostra (DI-SDME) ou no *headspace* (HS-SDME). Após um determinado tempo de extração o solvente é recolhido para o interior da microseringa e é tipicamente injetado em um sistema cromatográfico de análise (JAIN; VERMA, 2011). A Figura 2 representa um esquema da SDME no modo de imersão direta (A) e no modo *headspace* (B).

**Figura 1-** Esquema representando a microextração em gota única no modo de imersão direta (A) e no modo headspace (B).



Fonte: Autoria própria, (2018).

O modo de imersão direta é utilizado para a determinação de analitos não polares e moderadamente polares em matrizes relativamente limpas. Já o modo HS-SDME pode ser utilizado em amostras complexas, com material particulado e também para amostras sólidas, mas limita-se à extração de analitos voláteis e semi-voláteis. Ambos os modos são isentos de efeito de memória, uma vez que o solvente extrator é renovado a cada nova extração, e compatíveis com diversos métodos instrumentais, podendo ser completamente automatizados (PRZYJAZNY, 2019).

O transporte dos analitos da solução aquosa (amostra) para a microgota é geralmente limitado por baixos coeficientes de difusão dos analitos em fases condensadas (aquosa e/ou orgânica). Embora a temperatura e viscosidade do solvente desempenhem um papel fundamental nas taxas de difusão, o principal fator que regula a eficiência de transporte é a distância no meio onde ocorre a transferência. Dessa forma, as amostras são normalmente agitadas para reduzir a distância de difusão e aumentar a área de contato interfacial entre a microgota de solvente extrator e as moléculas do analito presentes na fase aquosa. Sendo assim, o tempo requerido para se atingir o equilíbrio em SDME

depende do grau de agitação da amostra, volumes de fases, área de contato interfacial e da constante de distribuição dos analitos.

Jeannot e Cantwell propuseram um modelo geral para o equilíbrio e transferência de massa em um sistema de microextração líquido-líquido em duas fases (JEANNOT; CANTWELL, 1997). A concentração dos analitos na fase orgânica ( $C_{o,eq}$ ) é definida pela equação 1:

$$C_{o,eq} = KC_{w,eq} = \frac{KC_w^0}{1+KV_o/V_w} \quad (1)$$

Onde,

$K$  = constante de distribuição de equilíbrio do analito entre as fases orgânica e aquosa

$C_{o,eq}$  = concentração de equilíbrio do analito na fase orgânica

$C_{w,eq}$  = concentração de equilíbrio do analito na fase aquosa

$C_w^0$  = concentração inicial do analito na fase aquosa

$V_o$  = volume da fase orgânica

$V_w$  = volume da fase aquosa

Em virtude da razão ( $V_o/V_w$ ) ser muito pequena para microextrações envolvendo solvente (geralmente  $<10^{-3}$ ), o termo da equação  $KV_o/V_w$  é negligenciado e o denominador da Equação 1 pode ser considerado 1 unidade.

É importante ressaltar que, mesmo quando se opera em condições de equilíbrio, raramente a extração em SDME será exaustiva. Isso é uma consequência da baixa razão entre os volumes das fases orgânica ( $V_o$ ) e aquosa ( $V_w$ ), e é equivalente a dizer que o número de mol de analito na fase orgânica é pequeno comparado ao número de mol na fase aquosa assim, uma quantidade muito pequena de analito é removida da amostra e qualquer equilíbrio envolvendo o analito na fase aquosa não é perturbado (KOKOSA, 2017).

Para evitar tempos demasiadamente longos de extração, a SDME é normalmente realizada sob condições cineticamente controladas de não-equilíbrio (JEANNOT; PRZYJAZNY; KOKOSA, 2010). O modelo cinético com dados experimentais ajustados de concentração ( $C_o$ ) versus tempo ( $t$ ) mostra que a SDME segue a seguinte cinética de primeira ordem:

$$C_o = C_{o,eq}(1 - e^{-kt}) \quad (2)$$

Onde a expressão para a constante de velocidade é dada por:

$$k = \frac{A_i}{V_o} \bar{\beta} \left( K \frac{V_o}{V_w} + 1 \right) \quad (3)$$

Considerando  $KV_o/V_w \ll 1$ , a constante de velocidade ( $k$ ) aumenta com o aumento da área interfacial e da convecção na fase aquosa, com pequenos volumes de fases e baixos valores de constantes de distribuição ( $K$ ). Em contrapartida, de acordo com a Eq. 1, no equilíbrio, grandes valores de  $K$  e de volumes de fases resultam em um número maior de mols dos analitos na fase orgânica (PRZYJAZNY, 2019).

Na prática, alguns parâmetros experimentais devem ser otimizados durante o desenvolvimento de uma metodologia de SDME de modo a garantir as melhores respostas analíticas, dentre os quais, tipo e volume de solvente extrator, tempo e temperatura de extração, agitação da amostra e adição de sal são os mais relevantes (JAIN; VERMA, 2011). As principais limitações da SDME incluem problemas relacionados com a estabilidade da gota em altas velocidades de agitação e com a volatilidade do solvente de extração (YOUSEFI; SHEMIRANI; GHORBANIAN, 2018).

Para a seleção de um solvente extrator apropriado, características como a natureza da amostra, tipo e concentração dos analitos devem ser consideradas de modo a assegurar efetivas interações intermoleculares entre o solvente e os analitos. Além disso, o solvente deve possuir algumas características como: (a) ser imiscível em água; (b) possuir elevado ponto de ebulição; (c) ter viscosidade suficiente para se aderir à ponta da agulha da microseringa sem comprometer a taxa de difusão do analito e (d) ser compatível com o sistema analítico de leitura, sendo que a maioria das aplicações utilizam cromatografia gasosa (KOKOSA, 2017).

Tradicionalmente, solventes como éter dietílico, éter metil-*terc*-butílico (MTBE), acetato de etila, benzeno, pentano, hexano, ciclohexano, cloreto de metileno ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ), clorofórmio ( $\text{CHCl}_3$ ), 1,1,1-tricloroetano e tetracloreto de carbono ( $\text{CCl}_4$ ) têm sido extensivamente utilizados para os mais diversos modos SME. Alguns deles, como o éter dietílico e o acetato de etila, por apresentarem elevada solubilidade em água e volatilidade foram substituídos. Outros, como benzeno,  $\text{CCl}_4$  e 1,1,1- tricloroetano, caíram em desuso devido à sua toxicidade, carcinogenicidade e efeitos ambientais atmosféricos prejudiciais. Por outro lado, alguns solventes tóxicos solúveis em água, como  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  e  $\text{CHCl}_3$ , continuam a ser usados como solventes de extração, especialmente para a DLLME, pois

há apenas um número limitado de solventes de alta densidade disponíveis para este modo SME. Os solventes mais utilizados na SDME são 1-octanol, tolueno, o-xileno para DI-SDME e 1-octanol, dodecano, tetradecano e hexadecano para HS-SDME. Alguns desses solventes de extração comumente usados em modos SME bem como uma seleção de suas principais propriedades físicas estão listados na Tabela 1 (KOKOSA, 2019).

**Tabela 1** – Valores para temperatura de ebulição ( $T_{eb}$ ), densidade ( $\rho$ ), viscosidade ( $\eta$ ), tensão superficial ( $\gamma$ ), pressão de vapor ( $P_v$ ), solubilidade,  $\text{LogK}_{ow}$  e ranking de risco ambiental dos principais solventes utilizados em modos SME.

Solvente	$T_{eb}$ (°C)	$\rho$ (g cm <sup>-3</sup> )	$\eta$ (cP/20°C)	$\gamma$ (g s <sup>-2</sup> /25°C)	$P_v$ (kPa/20°C)	Solubilidade ( $\mu\text{L mL}^{-1}/20^\circ\text{C}$ )	$\text{LogK}_{ow}$	Ranking de risco
Água	100	1,00	0,01	72,8	3,17	Miscível	-1,38	1,0000
1-Propanol	97	0,80	1,96	23,7	2,0	Miscível	0,25	0,9545
Etanol	78	0,79	1,04	22,4	5,9	Miscível	-0,81	0,9300
Acetona	56	0,79	0,32	22,8	30,8	Miscível	-0,24	0,9545
Dodecano	216	0,75	1,82	25,0	0,028	4,0 10 <sup>-6</sup>	7,13	0,8919
Acetato de etila	77	0,90	0,43 (a 25 °C)	23,6	12,1	87,8	0,73	0,8868
Decano	174	0,73	0,48	22,4	0,17	1,2 10 <sup>-5</sup>	5,98	0,8703
1-Octanol	195	0,83	6,49 (a 30 °C)	26,4	0,011	0,65	3,0	0,8689
Acetonitrila	82	0,78	0,35	29,0	9,73	Miscível	-0,34	0,8687
Undecano	196	0,74	1,08	19,2	0,075	5,4 10 <sup>-6</sup>	6,6	0,8677
Metanol	65	0,79	0,54	22,7	13,0	Miscível	-0,77	0,8644
Pentano	36	0,63	0,22	16,0	68,5	0,061	3,39	0,8475
Heptano	98	0,68	0,41	20,2	6,1	0,0044	4,66	0,8021
2-Propanol	82	0,78	2,1	23,3	4,4	Miscível	0,05	0,8698
Ciclohexano	81	0,78	0,98	25,0	13,1	0,070	4,15	0,7892
m-Xileno	139	0,86	0,62	28,9	0,8	0,19 (a 25 °C)	3,20	0,7594
Tolueno	110	0,86	0,59	29,7	3,79	0,55	2,73	0,7344
Diclorometano	40	1,33	0,41 (a 25 °C)	27,4	46,5	12	1,25	0,7150
p-Xileno	138	0,86	0,34 (a 30 °C)	29,0	0,9	0,21 (a 25 °C)	3,15	0,7072
Hexano	69	0,65	0,37	18,4	17,0	0,02	3,94	0,7057
Tetracloroetano	121	1,63	0,89	31,7 (a 25 °C)	2,46	0,37	3,40	0,6841
Clorofórmio	61	1,48	0,57	27,2	21,1	5,54	1,97	0,6862
o-Xileno	144	0,88	0,81	30,1	0,7	0,19 (a 25 °C)	3,12	0,6715
Tetracloroeto de carbono	77	1,59	0,97	26,9	11,9	0,50	2,64	0,6424
Benzeno	80	0,88	0,60 (a 25 °C)	28,2	12,7	2,0	2,13	0,6098

Fonte: (KOKOSA, 2019).

Em 2012, o professor Namiesnik teorizou sobre as principais diretrizes da Química Analítica Verde (GAC), fornecendo 12 princípios gerais a serem seguidos a fim de reduzir os efeitos potencialmente deletérios dos procedimentos analíticos (GAŁUSZKA; MIGASZEWSKI; NAMIEŚNIK, 2013). Esses princípios sugerem, entre outras diretrizes, a eliminação/miniaturização do preparo de amostra, segurança do analista, conservação dos recursos naturais por meio de fontes renováveis, diminuição da emissão de gases e vapores e substituição dos solventes orgânicos tóxicos por opções mais ambientalmente amigáveis sempre que possível (MAFRA *et al.*, 2020). Desde então, observou-se uma mudança crucial nas pesquisas em Química Analítica, na qual a busca por metodologias que visem minimizar os impactos energético e ambiental dos procedimentos analíticos se tornou uma grande tendência (CARASEK *et al.*, 2021).

Nesse sentido, uma nova geração de solventes extratores tem sido explorada, incluindo os solventes eutéticos profundos (DES, do inglês *Deep Eutectic Solvents*), solventes de hidrofiliabilidade comutável (SHS, do inglês *Switchable Hydrophilicity Solvents*) e os líquidos iônicos, de maneira a alinhar o desenvolvimento de metodologias analíticas com os princípios da Química Analítica Verde (LUIZ OENNING *et al.*, 2020; MORELLI *et al.*, 2020).

### 2.3. LÍQUIDOS IÔNICOS COMO SOLVENTES EXTRATORES

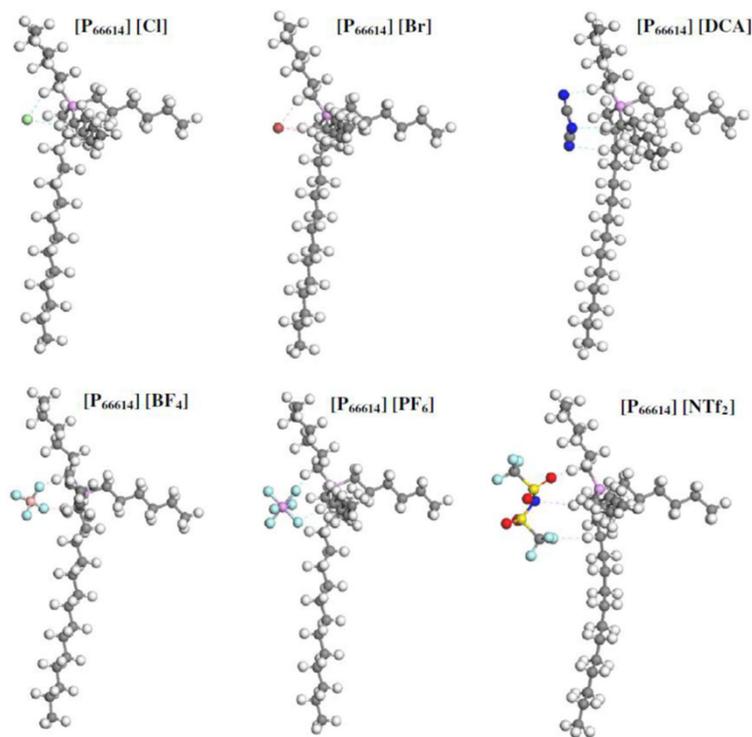
Líquidos iônicos (ILs) são sais orgânicos, constituídos inteiramente por íons, que se apresentam líquidos à temperatura ambiente (por definição, temperaturas inferiores a 100°C) (YAVIR *et al.*, 2020). Possuem atrativas propriedades físico químicas como pressão de vapor negligenciável à temperatura ambiente, alta viscosidade, elevada estabilidade química e eletroquímica, polaridade ajustável, além sofrerem múltiplas interações de solvatação com diversos tipos de moléculas (AN *et al.*, 2017).

Entretanto, a mais notória característica desses solventes é sua capacidade de planejar propriedades físicas, dependendo do objetivo e área de aplicação. Através da seleção apropriada dos cátions e ânions funcionalizados, uma infinidade de combinações e novos ILs podem ser gerados, com diferentes características. Por essa razão, na literatura, os ILs são frequentemente chamados de "*designer solvents*" (YAVIR *et al.*, 2020).

Esses solventes não moleculares são compostos usualmente por cátions orgânicos assimétricos contendo átomos de nitrogênio ou fósforo (ex. imidazol, piridina, pirrolidina, fosfônio ou amônio quaternário) e ânions orgânicos ou inorgânicos (ex. acetato, trifluoacetato, tetrafluorborato, hexafluorofosfato ou brometo) (RUIZ-

ACEITUNO; SANZ; RAMOS, 2013). Na Figura 2 estão contidas as representações geométricas dos principais ILs de fosfônio  $[P_{6,6,6,14}^+]$  com os ânions  $[Cl^-]$ ,  $[Br^-]$ , diclamida  $[DCA^-]$ ,  $[BF_4^-]$ ,  $[PF_6^-]$  e  $[NTf_2^-]$ .

**Figura 2** - Geometrias dos principais ILs de fosfônio no estado fundamental.



Fonte: Adaptado de (KHAZALPOUR *et al.*, 2020).

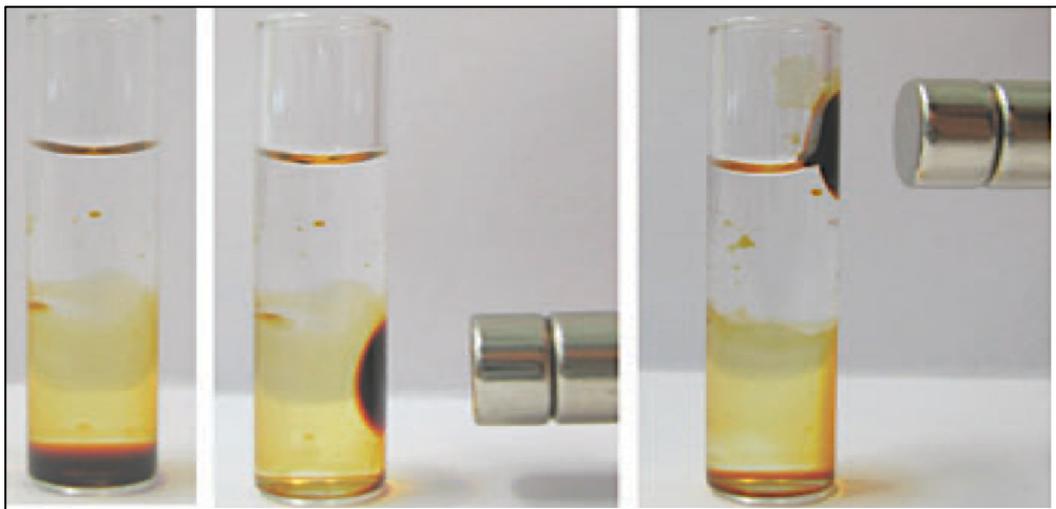
Devido às suas propriedades singulares, os ILs têm sido aplicados em muitas áreas da Química Analítica, seja em preparo de amostra para extração de metais (STANISZ; WERNER; ZGOŁA-GRZEŚKOWIAK, 2014) e compostos orgânicos (ABUJABER *et al.*, 2019; DE BOECK *et al.*, 2018; HU *et al.*, 2016; KAW *et al.*, 2021; PACHECO-FERNÁNDEZ *et al.*, 2018; ZHOU *et al.*, 2020) em fases estacionárias para separação cromatográfica (ANDERSON; ARMSTRONG, 2003) e também em sistemas de detecção (ARMSTRONG *et al.*, 2001). Por apresentarem características pouco voláteis, os ILs são normalmente utilizados em sistemas analíticos como HPLC, eletroforese capilar e técnicas espectroscópicas (ABD EL-HADY; ALBISHRI, 2015; RIVERA-VERA *et al.*, 2019). No entanto, trabalhos recentes descrevem abordagens que os tornam compatíveis também com sistemas de cromatografia gasosa (JAIN; VERMA, 2011; ZHANG *et al.*, 2017).

A seletividade no processo de extração pode ser favorecida de acordo com a seleção dos cátions e ânions precursores dos líquidos iônicos, uma vez que, sabendo a estrutura dos compostos que se deseja analisar, o IL pode ser sintetizado de maneira a potencializar suas propriedades de solvatação com os analitos (HANTAO; TOLEDO; AUGUSTO, 2016). Um grande grupo de derivados de ILs tem sido modelado para aplicações específicas, incluindo os líquidos iônicos poliméricos (PILs) que são polímeros sintetizados a partir de monômeros de líquidos iônicos (MERIB *et al.*, 2016; YU; MERIB; ANDERSON, 2016a) e também os IL baseados em surfactantes (PINO *et al.*, 2012; TRUJILLO-RODRÍGUEZ; GONZÁLEZ-HERNÁNDEZ; PINO, 2015). Mais recentemente, os líquidos iônicos magnéticos (MILs) foram introduzidos como solventes extratores alternativos para a Química Analítica (CLARK *et al.*, 2016a).

### **2.3.1. Líquidos iônicos magnéticos (MILs)**

Os líquidos iônicos magnéticos são uma subclasse dos ILs e são produzidos pela incorporação de um composto paramagnético na estrutura do cátion ou do ânion do IL, ocasionando uma resposta a um campo magnético externo, como mostrado na Figura 3. Os primeiros estudos com MIL surgiram em 2004 quando Satoshi e Hiro-o sintetizaram o tetracloroferrato de 1-butil-3-metilimidazol  $[Bmim^+][FeCl_4^-]$  (HAYASHI; HAMAGUCHI, 2004). Devido a sua natureza paramagnética, eles têm sido explorados em diversas aplicações, como em catalisadores reutilizáveis para síntese (DÖBBELIN *et al.*, 2011), espécies eletroativas em eletroquímica (KUMAR; LI; CAI, 2011), hidráulica magnética em engenharia (SCOVAZZO *et al.*, 2014) e como materiais para absorção de gases (SANTOS, Esther *et al.*, 2014). A excelente estabilidade térmica de alguns MILs tem sido explorada para fase estacionária em cromatografia gasosa multidimensional (NACHAM *et al.*, 2015).

**Figura 3** – Efeito de um ímã de Neodímio no líquido iônico magnético [EMIM][Fe(EDTA)] em *n*-heptano.



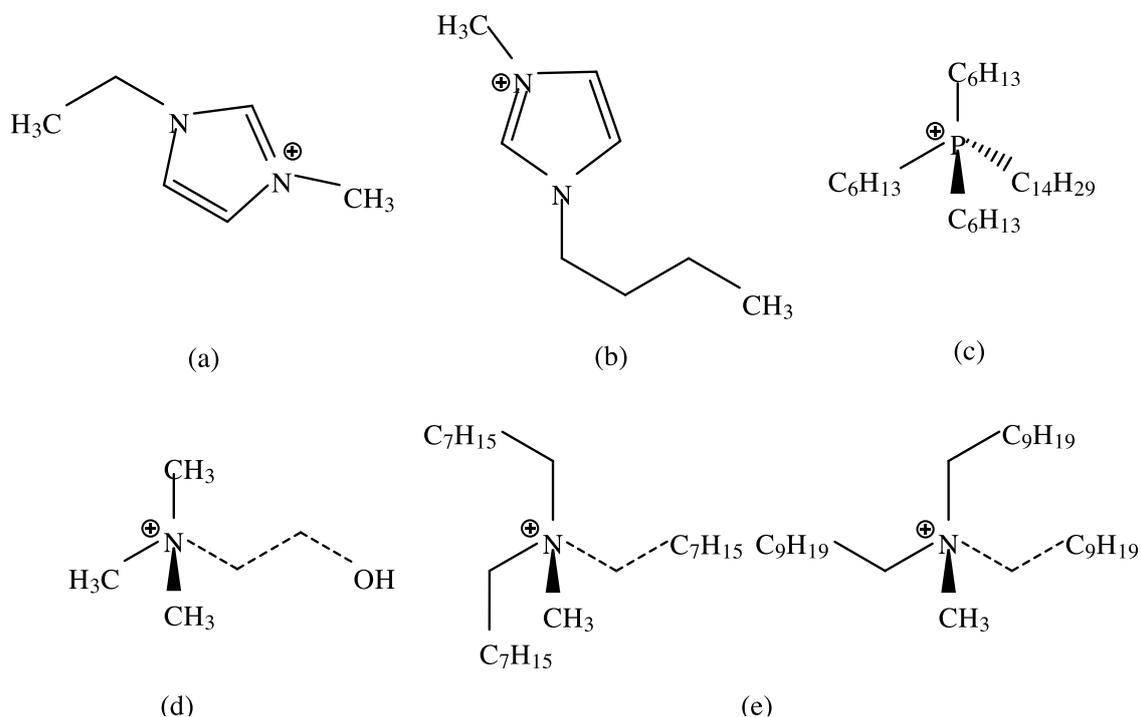
Fonte: Adaptado de (BRANCO; BRANCO; PIÑA, 2011).

Diferentemente dos ferrofluidos que exigem partículas magnéticas suspensas para transmitir propriedades magnéticas ao material, os MILs são transparentes e existem como solventes magnéticos puros, o que os torna apropriados para muitas aplicações ópticas. Os MILs também exibem baixa volatilidade, contornando a necessidade de dispersantes inflamáveis ou solventes orgânicos estabilizantes frequentemente empregados em ferrofluidos para evitar a aglomeração de partículas (CLARK *et al.*, 2016a).

Devido a sua alta estabilidade térmica, baixa pressão de vapor e, principalmente, devido à possibilidade de separação magnética e reciclagem, os MILs são considerados comparativamente mais “verdes” que os líquidos iônicos convencionais. No entanto, faltam estudos suficientes sobre os efeitos tóxicos e biocompatibilidade celular desses materiais (JOSEPH *et al.*, 2016).

Os cátions mais utilizados na síntese de MILs são sais quaternários de amônio e fosfônio como o trihexiltetradecilfosfônio [P<sub>6,6,6,14</sub>] e o [Aliquat®336], além de imidazóis funcionalizados como o 1-etil-3-metilimidazol [Emim] e o 1-butil-3-metilimidazol [Bmim]. Esses cátions são amplamente utilizados devido a sua disponibilidades e preços acessíveis (SANTOS, E; ALBO; IRABIEN, 2014). Na Figura 4 estão representadas as estruturas químicas dos principais cátions.

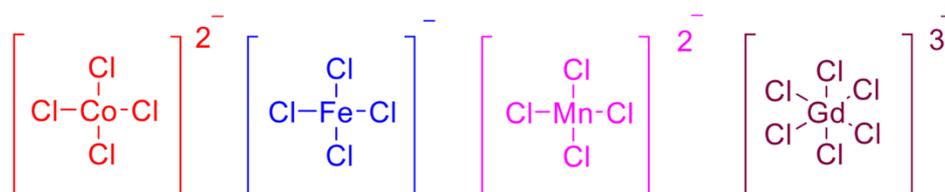
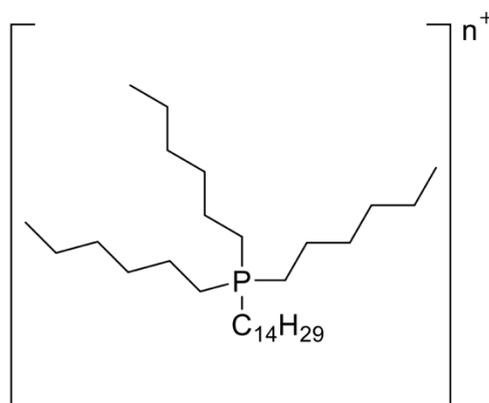
**Figura 4** – Principais cátions utilizados em MILs: (a) [Emim] = 1-Ethyl-3-methylimidazolium, (b) [Bmim] = 1-Butyl-3-methylimidazolium, (c) [P<sub>6,6,6,14</sub>] = trihexyl(tetradecyl)phosphonium, (d) [Aliquat® 336] = N-Methyl-N,N,N-trioctylammonium.



Fonte: (SANTOS, E; ALBO; IRABIEN, 2014)

Os MILs comumente utilizados possuem um metal de transição como o ferro, cobalto, manganês e cobre na estrutura do ânion (JOSEPH *et al.*, 2016). Elementos terras raras como o neodímio, gadolínio e disprósio também têm sido explorados na síntese dos MILs por possuírem fortes respostas ao campo magnético e apresentarem propriedades luminescentes (NACHAM *et al.*, 2015). A Figura 5 apresenta as estruturas dos principais MILs a base de [P<sub>6,6,6,14</sub><sup>+</sup>].

**Figura 5** - Estrutura dos principais MILs a base do cátion trihexiltetradecilfosfônio [P<sub>66614</sub><sup>+</sup>].



Fonte: Adaptado de (KHAZALPOUR *et al.*, 2020).

As propriedades paramagnéticas dos MILs fornecem uma vantagem única sobre os ILs convencionais, permitindo o controle sobre o movimento do substrato através da aplicação de um campo magnético externo (NACHAM *et al.*, 2015). A susceptibilidade magnética, representada por  $\chi_m$ , mensura a capacidade que um material tem de interagir ou distorcer um campo magnético aplicado (JOSEPH *et al.*, 2016). Ela está fortemente relacionada com a identidade do metal presente no ânion do MIL, como observado na Tabela 2. Líquidos iônicos magnéticos baseados em Fe(III) e Mn(II) possuem  $\chi_m$  similares, enquanto MILs baseados em Co(II) exibem valores bem menores. Susceptibilidades magnéticas significativamente maiores são encontradas em MILs baseados em Gd(III) (CLARK *et al.*, 2016a).

**Tabela 2** – Propriedades físico-químicas dos MILs.

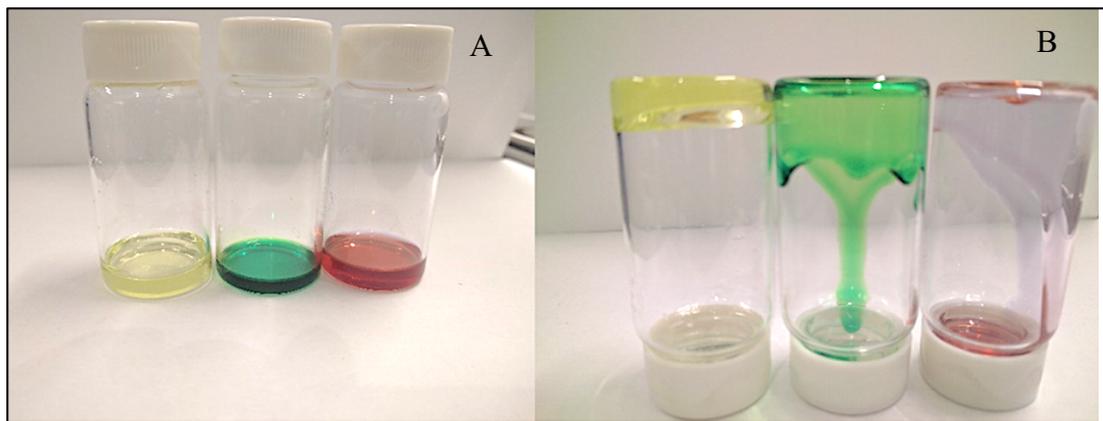
MIL	Massa Molar (g mol <sup>-1</sup> )	Susceptibilidade magnética (emu K mol <sup>-1</sup> )	Viscosidade a 25 °C (cP)	Densidade a 25 °C (g cm <sup>-3</sup> )
[P <sub>6,6,6,14</sub> ] <sub>2</sub> <sup>+</sup> [CoCl <sub>4</sub> ] <sup>-2</sup>	1112,0	2,10	83460	0,962
[P <sub>6,6,6,14</sub> ] <sup>+</sup> [Co(NSC) <sub>4</sub> ] <sup>-</sup>	1258,97	2,06	-	-
[P <sub>6,6,6,14</sub> ] <sup>+</sup> [FeCl <sub>4</sub> ] <sup>-</sup>	681,5	4,29	650	1,008
[Bmin] <sup>+</sup> [FeCl <sub>4</sub> ] <sup>-</sup>	336,87	4,11	41,3	1,33
[C <sub>10</sub> min] <sup>+</sup> [FeCl <sub>4</sub> ] <sup>-</sup>	421,03	4,01	-	-
[P <sub>6,6,6,14</sub> ] <sub>2</sub> <sup>+</sup> [MnCl <sub>4</sub> ] <sup>-2</sup>	1103,0	4,23	75230	0,949
[C4mim] <sub>2</sub> <sup>+</sup> [MnBr <sub>4</sub> ] <sup>-2</sup>	652,99	4,26	-	-
[P <sub>6,6,6,14</sub> ] <sub>3</sub> <sup>+</sup> [GdCl <sub>6</sub> ] <sup>-3</sup>	1821,5	6,51	18390	0,981

Fonte: (ALBO *et al.*, 2012; DANIEL, C I *et al.*, 2013)

A funcionalização de MILs baseados em imidazóis é relativamente mais fácil e barata comparada com MILs de amônio e fosfônio. Entretanto, a natureza hidrofílica e a tendência em se solidificar em temperatura ambiente, devido à incorporação de porções aromáticas e longas cadeias alquílicas, representa uma grande limitação associada a essa classe de moléculas. A separação magnética de fases é impedida em MILs que exibem miscibilidade em água. Dessa forma, MILs com características hidrofílicas são ineficazes para aplicações em sistemas aquosos, especialmente em baixas proporções do solvente, como é o caso das técnicas de microextração (CLARK *et al.*, 2016a).

As estratégias mais atuais para aumentar a hidrofobicidade do MIL incluem a funcionalização do cátion com porções hidrofóbicas utilizando [P<sub>6,6,6,14</sub><sup>+</sup>] e [Aliquat<sup>+</sup>] ou através da incorporação de ânions fracamente coordenadores e relativamente hidrofóbicos, como por exemplo o [NTf<sub>2</sub><sup>-</sup>], dentro da estrutura do MIL. Líquidos iônicos magnéticos dicatiônicos e tricatiônicos também já foram sintetizados para reduzir sua miscibilidade em água e aumentar sua susceptibilidade magnética (NACHAM *et al.*, 2015). Alternativamente, MILs hidrofóbicos de baixa viscosidade foram produzidos ao associar um cátion hidrofóbico, como o [P<sub>6,6,6,14</sub><sup>+</sup>], com um ânion hidrofóbico fracamente coordenado, o hexafluoroacetilacetato ([hfacac<sup>-</sup>]), formando quelatos metálicos paramagnéticos em que o ligante bidentado se coordena com metais de transição ou terras-raras através dos dois oxigênios presentes no [hfacac<sup>-</sup>] (PIERSON *et al.*, 2017), como indica a Figura 6.

**Figura 6** – A)  $[P_{6,6,6,14}^+]_2[MnCl_4]^{-2}$  (esquerda),  $[P_{6,6,6,14}^+][Ni(II)(hfacac)_3]^-$  (meio) e  $[P_{6,6,6,14}^+][Nd(III)(hfacac)_4]^-$  (direita) antes e B) após 1 segundo de inversão. Valores de viscosidade a 25 °C: 75230, 927,9 e 299,4 cP, respectivamente.



Fonte: Adaptado de (PIERSON *et al.*, 2017)

A maioria dos MILs são líquidos viscosos, com viscosidades comparadas à de óleos, sendo de duas a três ordens de magnitude maiores que a dos solventes orgânicos convencionais (SANTOS, E; ALBO; IRABIEN, 2014). A comparação direta entre as propriedades físico-químicas, como densidade e viscosidade, e as interações intermoleculares dos MILs permitem associar diversas características desses solventes com a estrutura dos cátions e ânions. Em uma publicação recente, foi estudada a relação entre essas propriedades e o aumento de temperatura dos MILs  $[emim][FeCl_4]_4$ ,  $[bmim][FeCl_4]_4$  e  $[hmim][FeCl_4]$  (DANESHVAR; MOOSAVI; SABZYAN, 2020). Os resultados mostraram que à medida que a temperatura aumenta, densidade e viscosidade diminuem, devido ao enfraquecimento das interações de Van der Waals e eletrostáticas nesses líquidos. A extensão da cadeia alquílica, por sua vez, atua diferentemente na densidade e viscosidade dos MILs. A densidade dos MILs aumenta com a diminuição da cadeia alquílica na seguinte ordem  $[hmim][FeCl_4] < [bmim][FeCl_4] < [emim][FeCl_4]$ . Em contrapartida, a viscosidade aumenta na ordem inversa  $[emim][FeCl_4] < [bmim][FeCl_4] < [hmim][FeCl_4]$ , uma vez que as interações de VdW aumentam com o aumento da cadeia alquílica, levando a um aumento da viscosidade.

Em outro estudo, foi investigada a contribuição dos diferentes cátions e ânions na viscosidade dos líquidos iônicos magnéticos. Foi observada uma contribuição negativa dos ânions na seguinte ordem:  $[GdCl_6]^{-3} < [CoCl_4]^{-2} < [MnCl_4]^{-2} < [FeCl_4]^-$ , sendo que o efeito da temperatura na viscosidade do  $[MnCl_4]^{-2}$  é o mais significativo. Já os cátions têm uma contribuição positiva na viscosidade dos MILs, sendo que o  $[P_{6,6,6,14}^+]$  sofre uma

menor influência da temperatura e possui uma menor contribuição comparada com os cátions imizadol, piridínio e pirrolidínio (DANIEL, C I *et al.*, 2013).

Daniel e colaboradores estudaram a contribuição do campo magnético na extração de ibuprofeno e pireno através de uma membrana suportada de MIL. Eles observaram que, sob a aplicação de um campo magnético de 1,2 T, os coeficientes de difusão e permeabilidade dos analitos aumentaram em comparação com o transporte na ausência do campo magnético. Os autores concluíram que a aplicação de um campo magnético diminui a viscosidade e aumenta a solubilidade dos analitos no MIL devido a sua resposta magnética (DANIEL, Carla I *et al.*, 2016).

A viscosidade dos MILs também influencia a aplicação desses fluidos em Química Analítica, sendo que MILs de diferentes viscosidades podem ser sintetizados a partir da combinação de diferentes cátions e ânions. Líquidos altamente viscosos são desejáveis para algumas aplicações, como em fase estacionária para GC, enquanto os de menor viscosidade são preferíveis em técnicas de microextração, pois facilitam o transporte de massa e a sua manipulação (CLARK *et al.*, 2016a). A viscosidade dos MILs previne a perda de solvente durante extrações prolongadas, aumentando a reprodutibilidade dos métodos. Entretanto, sua injeção direta nos sistemas de análise não é recomendada, sendo necessária a diluição do MIL em um solvente compatível (AN *et al.*, 2017).

Ao modificar a estrutura química do cátion ou ânion, os MILs podem ser projetados para possuir propriedades físico-químicas desejáveis para aplicações específicas. MILs de Mn são úteis em aplicações analíticas, pois são menos suscetíveis a hidrólise e exibem menor absorbância no UV em comparação com os Fe-MILs. Dessa forma, o acoplamento com técnicas de preparo de amostra como a SDME e DLLME com um instrumento de HPLC-UV é bastante conveniente (AN *et al.*, 2017).

Quando aplicados em SDME, os MILs podem ser facilmente ancorados em ímãs de haste, evitando a necessidade de uma microseringa convencional. As gotículas de MIL têm um volume maior do que as de SDME típicas (usando ILs ou qualquer outro solvente). Além disso, suas propriedades magnéticas garantem maior estabilidade da gota por tempo prolongado de amostragem sob altas taxas de agitação ou mesmo sob condições de baixa pressão. Em procedimentos de DLLME, o uso de líquidos iônicos magnéticos elimina a necessidade de uma etapa de centrifugação, uma vez que o solvente é recolhido com o auxílio de um magneto (AN *et al.*, 2017).

Para exemplificar a aplicabilidade desses materiais, é mostrada na Tabela 3 uma lista com alguns estudos previamente publicados. Essa tabela contém os analitos e algumas

das características da metodologia utilizada e também o tipo de líquido iônico magnético empregado nas suas determinações.

**Tabela 3** - Aplicações analíticas envolvendo líquidos iônicos magnéticos (MILs) em técnicas de microextração com solvente (SME).

MIL	Técnica de SME	Analitos/Amostra	Instrumentação analítica	Referência
$[3C_6PC_{14}][FeCl_4]$	Não mencionada	Nitrofenóis e clorofenóis/Solo	HPLC-UV	(DENG <i>et al.</i> , 2011)
$[C_6mim][FeCl_4]$	DLLME	Triazinas/Óleo vegetal	HPLC-UV	(WANG, Y. <i>et al.</i> , 2014)
$[Pbmim][FeCl_4]_2$	DLLME	Au e Pt/Minério	ETAAS	(BEIRAGHI <i>et al.</i> , 2015)
$[(C_{16}BnIM)_2C_{12}^{2+}][NTf_2^-, FeCl_3Br^-]$ , $[(C_8)_3BnN^+][FeCl_3Br^-]$ e $[P_{6,6,6,14}^+][FeCl_4^-]$	SDME e DDE	DNA/Solução aquosa de albumina	HPLC-UV	(CLARK <i>et al.</i> , 2015)
$[N_{8,8,8,1}][FeCl_4]$	SADBME	Fenóis e fármacos ácidos/Águas ambientais	HPLC-DAD	(CHATZIMITAKOS, T. <i>et al.</i> , 2016)
$[N_{888Bn}^+][FeCl_3Br^-]$ e $[P_{66614}^+][FeCl_4^-]$	SDE	DNA/Pâncreas bovino	HPLC-UV	(CLARK <i>et al.</i> , 2016b)
$[Bmim][FeCl_4]$	DDLE	U/Lixo nuclear	ICP-OES	(SHIRVANI <i>et al.</i> , 2016)
$[N_{8,8,8,B}][FeCl_3Br]$ , $[N_{8,8,8,MOB}][FeCl_3Br]$ e $[(BBnIm)_2C_{12}][NTf_2][FeCl_3Br]$	Não mencionada	HPAs/Água de torneira, esgoto e chá	HPLC-FD	(TRUJILLO-RODRÍGUEZ <i>et al.</i> , 2016)
$[Aliquat^+]_2[MnCl_4^{2-}]$ , $[N_{1,8,8,8}^+]_2[MnCl_4^{2-}]$ e $[P_{6,6,6,14}^+]_2[MnCl_4^{2-}]$	DLLME	HPAs, fenóis, fármacos e inseticidas/Água de rio e lago	HPLC-UV	(YU; MERIB; ANDERSON, 2016b)

Continuação da Tabela 3

$[P_{6,6,6,14}^+]_2[MnCl_4^{2-}]$ e $[Aliquat^+]_2[MnCl_4^{2-}]$	HS-SDME e DLLME	Compostos aromáticos/Água de lago	HPLC-DAD	(AN; RAHN; ANDERSON, 2017)
$[P_{6,6,6,14}][Ni(hfacac)_3]$ , $[P_{6,6,6,14}][Co(hfacac)_3]$ e $[P_{6,6,6,14}][Dy(hfacac)_4]$	SBDLME	Filtros UV/Águas de rio, lago e piscina	TD-GC-MS	(CHISVERT <i>et al.</i> , 2017)
$[Aliquat^+]_2[MnCl_4^{2-}]$ , $[P_{6,6,6,14}^+]_2[MnCl_4^{2-}]$ , $[P_{6,6,6,14}^+][Dy(hfacac)_4^-]$ e $[P_{6,6,6,14}^+][Mn(hfacac)_3^-]$	HS-SDME	Ácidos graxos de cadeia curta/Leite	GC-MS	(TRUJILLO-RODRÍGUEZ; PINO; ANDERSON, 2017)
$[TMG][TEMPO-OSO_3]$	MILATPs	Cloranfenicol/Água de rio, lago e torneira	HPLC-UV	(YAO, T.; YAO, 2017)
$[P_{6,6,6,14}^+][Ni(II)(hfacac)_3^-]$ e $[P_{6,6,6,14}^+][Co(II)(hfacac)_3^-]$	Não mencionada	Ácido nucleico/DNA	LC-TOFMS	(CLARK; VARONA; ANDERSON, 2017)
$[P_{66614}^+][Dy(III)(hfacac)_4^-]$	DLLME	Triazinas e sulfonamidas/Água de lago e esgoto	HPLC-DAD	(CHATZIMITAKOS, T. G. <i>et al.</i> , 2018)
$[P_{6,6,6,14}^+]_2[MnCl_4^{2-}]$ e $[Aliquat^+]_2[MnCl_4^{2-}]$	DLLME	Hormônios estrogênicos/Urina	HPLC-DAD	(MERIB <i>et al.</i> , 2018)

Continuação da Tabela 3

[P <sub>6,6,6,14</sub> <sup>+</sup> ][Ni(II)(hfacac) <sub>3</sub> <sup>-</sup> ]	SBDLME	HPA/Água	TD-GC-MS	(BENEDÉ; ANDERSON; CHISVERT, 2018)
[C <sub>4</sub> mim][FeCl <sub>4</sub> ]	UASEME + μ-SPE	Cd e Pb/Óleo vegetal	GFAAS	(YAO, L. <i>et al.</i> , 2018)
[C <sub>4</sub> mim][FeCl <sub>4</sub> ]	ETA-MILs-ME	As(III) e As(IV)/Vegetais	GFAAS	(WANG <i>et al.</i> , 2018)
[P <sub>6,6,6,14</sub> FeCl <sub>4</sub>	DLLME	Cd/Mel	ETAAS	(FIORENTINI; CANIZO; WUILLOUD, 2019)
[Emim] <sub>2</sub> [Co(NCS) <sub>4</sub> ]	HS-SDME	Clorobenzeno/Água	TD-GC-MS	(FERNÁNDEZ, E.; VIDAL; CANALS, 2018)
[P <sub>6,6,6,14</sub> <sup>+</sup> ] <sub>2</sub> [MnCl <sub>4</sub> <sup>2-</sup> ] e [Aliquat <sup>+</sup> ] <sub>2</sub> [MnCl <sub>4</sub> <sup>2-</sup> ]	Pa-SDME	Disruptores endócrinos/Água	HPLC-DAD	(MAFRA <i>et al.</i> , 2019)
[P <sub>6,6,6,14</sub> <sup>+</sup> ] <sub>2</sub> [MnCl <sub>4</sub> <sup>2-</sup> ] e [Aliquat <sup>+</sup> ] <sub>2</sub> [MnCl <sub>4</sub> <sup>2-</sup> ]	DLLME	Multiclasse/Água	HPLC-DAD	(DA SILVA <i>et al.</i> , 2019)
[P <sub>6,6,6,14</sub> FeCl <sub>4</sub>	DLLME	As/Mel	ETAAS	(FIORENTINI; CANIZO; WUILLOUD, 2019)
[Co(BIm) <sub>4</sub> <sup>2+</sup> ] <sub>2</sub> [Cl <sup>-</sup> ], [Co(BIm) <sub>4</sub> <sup>2+</sup> ] <sub>2</sub> [NTf <sub>2</sub> <sup>-</sup> ], [Ni(BIm) <sub>4</sub> <sup>2+</sup> ] <sub>2</sub> [Cl <sup>-</sup> ], [Ni(BIm) <sub>4</sub> <sup>2+</sup> ] <sub>2</sub> [NTf <sub>2</sub> <sup>-</sup> ], [Ni(BIm) <sub>4</sub> <sup>2+</sup> ] <sub>2</sub> [Cl <sup>-</sup> ], [Ni(BIm) <sub>4</sub> <sup>2+</sup> ] <sub>2</sub> [NTf <sub>2</sub> <sup>-</sup> ], [Ni(BnIm) <sub>4</sub> <sup>2+</sup> ] <sub>2</sub> [Cl <sup>-</sup> ] e [Ni(BnIm) <sub>4</sub> <sup>2+</sup> ] <sub>2</sub> [NTf <sub>2</sub> <sup>-</sup> ]	<i>In situ</i> DLLME	DNA/Água	HPLC-DAD + Espectroscopia de Fluorescência	(BOWERS <i>et al.</i> , 2019)

Continuação da Tabela 3

[Ni(C <sub>4</sub> IM) <sub>4</sub> <sup>2+</sup> ] <sub>2</sub> [Cl <sup>-</sup> ] e [Ni(BeIM) <sub>4</sub> <sup>2+</sup> ] <sub>2</sub> [Cl <sup>-</sup> ]	<i>In situ</i> DLLME	Contaminantes orgânicos/Água UP	HPLC-DAD	(TRUJILLO-RODRÍGUEZ; ANDERSON, 2019a)
[P <sub>6,6,6,14</sub> <sup>+</sup> ][Mn(hfacac) <sub>3</sub> <sup>-</sup> ], [N <sub>8,8,8,Bz</sub> <sup>+</sup> ][Mn(hfacac) <sub>3</sub> <sup>-</sup> ], e [N <sub>8,8,8,Bz</sub> <sup>+</sup> ][Mn(hfacac) <sub>2</sub> (Phtfacac) <sup>-</sup> ]	DLLME	DNA/Plasma	qPCR	(EMAUS; VARONA; ANDERSON, 2019)
[Ni(C <sub>4</sub> IM) <sub>4</sub> <sup>2+</sup> ] <sub>2</sub> [Cl <sup>-</sup> ] e [Ni(C <sub>8</sub> IM) <sub>4</sub> <sup>2+</sup> ] <sub>2</sub> [Cl <sup>-</sup> ]	<i>In situ</i> SBDLME	Contaminantes orgânicos/Água UP	HS-GC-MS	(TRUJILLO-RODRÍGUEZ; ANDERSON, 2019b)
[P <sub>6,6,6,14</sub> <sup>+</sup> ][Mn(hfacac) <sub>3</sub> <sup>-</sup> ]	Não mencionada	Ácido nucleico/DNA	Espectroscopia de Fluorescência	(DING <i>et al.</i> , 2019)
[P <sub>66614</sub> <sup>+</sup> ][Co(hfacac) <sub>3</sub> <sup>-</sup> ] e [P <sub>66614</sub> <sup>+</sup> ][Ni(hfacac) <sub>3</sub> <sup>-</sup> ]	Não mencionada	Salmonela/Alimento	Electroforese em Gel	(HICE <i>et al.</i> , 2019)
[P <sub>66614</sub> <sup>+</sup> ][Mn(PhCF <sub>3</sub> acac) <sub>3</sub> <sup>-</sup> ] e [P <sub>66614</sub> <sup>+</sup> ][Mn(hfacac) <sub>3</sub> <sup>-</sup> ]	Nao mencionada	DNA	qPCR	(CLARK; ZHU; ANDERSON, 2019)
[C <sub>2</sub> MIM-TEMPO]Cl, [C <sub>3</sub> MIM-TEMPO]Cl, [C <sub>4</sub> MIM-TEMPO]Cl e [C <sub>5</sub> MIM-TEMPO]Cl	<i>In situ</i> DLLME	Sulfonamidas/Leite	HPLC-UV	(YAO, T.; DU, 2020)
[Emim] <sub>2</sub> [Co(SCN) <sub>4</sub> ]	DLLME	Cd/Óleo, gasolina e diesel	ETAAS	(AGUIRRE <i>et al.</i> , 2020)

Continuação da Tabela 3

$[P_{6,6,6,14}^+][FeCl_4^-]$ , $[P_{6,6,6,14}^+]_2[MnCl_4^{2-}]$ , $[P_{6,6,6,14}^+]_2[CoCl_4^{2-}]$ e $[P_{6,6,6,14}^+]_2[NiCl_4^{2-}]$	DLLME	Estrogênios/Leite e cosméticos	HPLC-UV	(FENG <i>et al.</i> , 2020)
$[P_{6,6,6,14}^+]_2[MnCl_4^{2-}]$ e $[Aliquat^+]_2[MnCl_4^{2-}]$	DLLME	Multiclasse/Urina	HPLC-DAD	(WILL <i>et al.</i> , 2020)
$[P_{6,6,6,14}][FeCl_4]$	DLLME	Cr/Mel	ETAAS	(FIORENTINI; OVIEDO; WUILLOUD, 2020)
$[N_{8,8,8,Bz}^+]_2[Co(SCN)_4^{2-}]$	MA-DLLME	Aminas biogênicas/Cerveja e Leite	HPLC-UV	(CAO <i>et al.</i> , 2020)
$[N_{8,8,8,Bz}^+][Ni(hfacac)_3^-]$ e $[P_{6,6,6,14}^+][Ni(Phtfacac)_3^-]$	DLLME	ctDNA/Plasma	qPCR	(EMAUS; ANDERSON, 2020a)
$[P_{66614}^+][Co(hfacac)_3^-]$ e $([P_{66614}^+][Co(Phtfacac)_3^-]$	SDE	RNA/Água	Eletroforese em gel de agarose	(ZHU; VARONA; ANDERSON, 2020)
$([N_{8,8,8,Bz}^+][Ni(hfacac)_3^-]$ e $[P_{6,6,6,14}^+][Ni(Phfacac)_3^-]$	Não mencionada	DNA/Sangue	qPCR	(EMAUS; ANDERSON, 2020b)
$[P_{6,6,6,14}^+]_3[GdCl_6^{3-}]$	DLLME	Fármacos/Água de rio	HPLC-UV	(ABDELAZIZ; MANSOUR; DANIELSON, 2021)
$[Co(C_4IM)_4^{+2}]_2[NTf_2^-]$ , $[Ni(C_4IM)_4^{+2}]_2[NTf_2^-]$ e $[Ni(BeIM)_4^{+2}]_2[NTf_2^-]$	Pa-DDE	Multiclasse/Água	HPLC-DAD	(WILL <i>et al.</i> , 2021)

$[3C_6PC_{14}][FeCl_4]$  = trihexiltetradecilfosfonio tetracloroferrato;  $[C_6mim][FeCl_4]$  = 1-hexil-3-metilimidazol tetracloroferrato;  
 $[Pbmim][FeCl_4]_2$  = 1,3-(propil-1,3-diil)bis-(3-metilimidazol)bis-(tetracloroferrato(III));  
 $[(C_{16}BnIM)_2C_{12}^{2+}][NTf_2^-, FeCl_3Br^-]$  = 1,12-di(3-hexadecilbenzimidazol)dodecano bis[(trifluorometil)-sulfonil]imida bromotricloroferrato(III) ;  
 $[(C_8)_3BnN^+][FeCl_3Br^-]$  = benzil-trioctilammonio bromotricloroferrato(III);  $[P_{6,6,6,14}^+][FeCl_4^-]$  = trihexil(tetradecil)fosfonio tetracloroferrato(III);  
 $[N_{8,8,8,1}][FeCl_4]$  = metiltrioctilammonio tetracloroferrato;  $[N_{888}Bn^+][FeCl_3Br^-]$  = benziltrioctilammonio bromotricloroferrato(III);  
 $[Bmim][FeCl_4]$  = 1-butil-3- metilimidazol tetracloroferrato;  $[N_{8,8,8,MOB}][FeCl_3Br]$  = metoxibenziltrioctilammonio bromotricloroferrato (III);  
 $[(BBnIm)_2C_{12}][NTf_2][FeCl_3Br]$  = 1,12-di(3-benzilbenzimidazol)dodecano bis[(trifluorometil)sulfonil]imida bromotricloroferrato (III);  
 $[Aliquat^+]_2[MnCl_4^{2-}]$  = aliquat tetracloromanganato(II);  $[N_{1,8,8,8}^+]_2[MnCl_4^{2-}]$  = metiltrioctilammonio tetracloromanganato(II);  
 $[P_{6,6,6,14}^+]_2[MnCl_4^{2-}]$  = trihexiltetradecilfosfonio tetracloromanganato(II);  
 $[P_{6,6,6,14}][Dy(hfacac)_4]$  = trihexil(tetradecil)fosfonio tetrakis(hexafluoroacetilaceto)disprosato(III);  
 $[P_{6,6,6,14}^+][Mn(hfacac)_3^-]$  = trihexil(tetradecil)fosfonio tris(hexafluoroacetilaceto) manganato(II)

Os desenvolvimentos descritos na Tabela 3 permitem averiguar como os estudos envolvendo MILs evoluíram ao longo desses 10 anos, sendo utilizados em técnicas de preparo de amostras. A possibilidade de utilização de MILs como solventes extratores em abordagens de preparo de amostras possibilitou uma cascata de novas aplicações. Após os primeiros anos de aplicações analíticas utilizando exclusivamente os MIL à base de ferro, notou-se uma tendência em descobrir e aplicar solventes com novas propriedades, de maneira a compatibilizar as características dos MILs aos instrumentos de análise. Uma melhoria significativa foi alcançada com a proposta de injeção direta de MILs à base de manganês no instrumento HPLC após um procedimento de DLLME (YU; MERIB; ANDERSON, 2016b). Neste caso, os MILs compatíveis com HPLC permitiram um fluxo de trabalho mais simples sem a necessidade de uma etapa de centrifugação comumente empregada em abordagens DLLME.

Esses solventes magnéticos têm sido explorados em abordagens de microextração para extrair uma série de compostos orgânicos de amostras ambientais e biológicas. Nesses casos, técnicas de microextração, incluindo a DLLME (ABDELAZIZ; MANSOUR; DANIELSON, 2021; CHATZIMITAKOS, T. G. *et al.*, 2018; DA SILVA *et al.*, 2019; FENG *et al.*, 2020; WILL, Camila *et al.*, 2020), a SDME (AN; RAHN; ANDERSON, 2017; FERNÁNDEZ, E.; VIDAL; CANALS, 2018; MAFRA *et al.*, 2019; TRUJILLO-RODRÍGUEZ; PINO; ANDERSON, 2017) e uma nova abordagem chamada de microextração líquido dispersiva em barra de agitação, SBDLME do inglês *Stir Bar Dispersive Liquid Microextraction* têm sido recentemente atreladas aos MILs (BENEDÉ; ANDERSON; CHISVERT, 2018; CHISVERT *et al.*, 2017).

Na SBDLME, o MIL é adicionado na amostra juntamente com uma barra de agitação magnética, fazendo com que o MIL recubra a barra de agitação devido ao magnetismo. Enquanto a taxa de agitação é mantida em baixa velocidade, o MIL resiste às forças rotacionais (centrífugas) e permanece na superfície da barra de agitação de uma maneira muito parecida com a SBSE. Ao aumentar a taxa de agitação, as forças rotacionais superam o campo magnético e o MIL se dispersa na amostra de forma semelhante à DLLME. Após a extração, a agitação é interrompida e o MIL retorna à barra de agitação sem a necessidade de um campo magnético externo adicional, podendo ser analisado direta ou indiretamente no equipamento analítico (CHISVERT *et al.*, 2017).

Apesar de a grande maioria dos trabalhos envolvendo MILs ser utilizada para a determinação das mais variadas classes de compostos orgânicos, a aplicação dos MILs para a extração por DLLME de elementos como Pb, Cd, As, Cr, Au, Pt e U em matrizes

alimentícias, combustíveis, minério e lixo nuclear tem rendido recentes publicações (AGUIRRE *et al.*, 2020; FIORENTINI; CANIZO; WUILLOUD, 2019; FIORENTINI; ESCUDERO; WUILLOUD, 2018; FIORENTINI; OVIEDO; WUILLOUD, 2020).

O uso de MILs para extrair ácidos nucleicos, como o DNA, levaram a interessantes e promissoras aplicações bioanalíticas, uma vez que esse tipo de análise, muitas vezes, requer etapas dispendiosas e demoradas de preparo de amostra. O primeiro estudo sobre o tema foi relatado em 2015, e consistiu em um método simples utilizando Extração em Gota Dispersiva, denominada DDE, do inglês *Dispersive Droplet Extraction* (CLARK *et al.*, 2015). Além disso, novos estudos comprovaram a compatibilidade dos MILs com a análise de PCR, importante para a amplificação das fitas de DNA (CLARK *et al.*, 2016b; EMAUS; ANDERSON, 2020a, 2020b; EMAUS; VARONA; ANDERSON, 2019).

Particularmente relacionado às aplicações em amostras biológicas, o primeiro estudo envolvendo MILs compatíveis com HPLC como solvente extrator foi relatado em 2018 e consistiu na extração por DLLME de alguns hormônios da urina humana (MERIB *et al.*, 2018). Desde então, outros compostos de interesse forense e toxicológico foram determinados em urina utilizando MILs (WILL, Camila *et al.*, 2020).

Mais recentemente, novas estratégias de extração envolvendo a formação *in-situ* do MIL hidrofóbico para aplicação em DLLME e SBDLME foram propostas (BOWERS *et al.*, 2019; TRUJILLO-RODRÍGUEZ; ANDERSON, 2019b, 2019a). Essa nova abordagem possibilita a formação do MIL diretamente na amostra contendo os analitos, em uma etapa livre de solvente orgânico. Durante a reação de metátese, numerosas gotículas de MIL hidrofóbico são finamente dispersas e o processo de troca de ânions leva a um aumento na área superficial do solvente, promovendo maiores eficiências de extração (WILL, C. *et al.*, 2021).

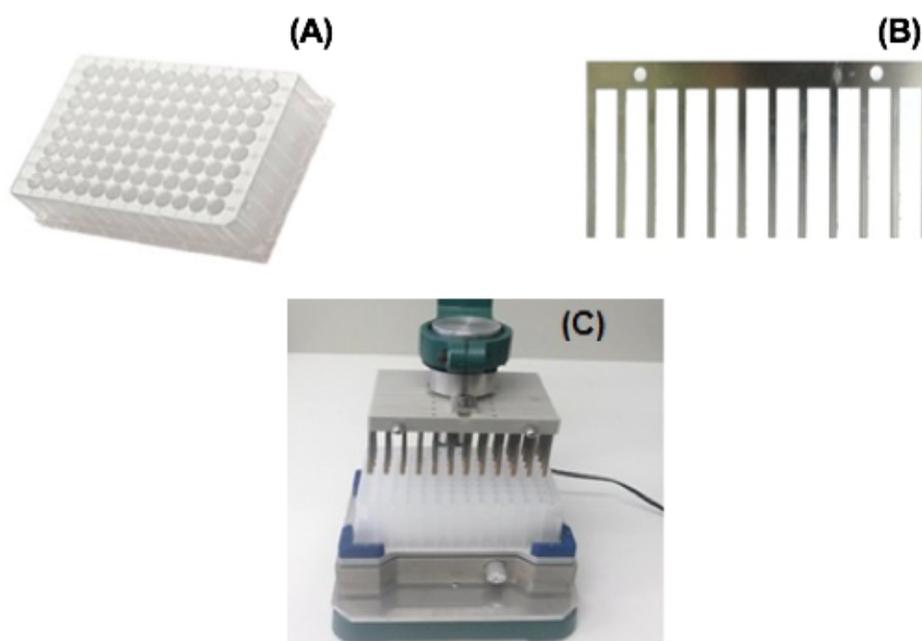
Além disso, esforços têm sido dedicados para melhorar o rendimento das metodologias analíticas baseadas em MIL. Estratégias envolvendo o desenvolvimento de dispositivos capazes de promover múltiplas extrações aumentaram a frequência analítica das metodologias baseadas em MILs e apresentam potencial para serem exploradas em diversas aplicações (MAFRA *et al.*, 2019; WILL, C. *et al.*, 2021).

## 2.4. EXTRAÇÕES PARALELAS NO SISTEMA 96-WELL PLATE

O preparo da amostra é conhecido como o "gargalo" na maioria dos procedimentos analíticos. Muitas aplicações biológicas e ambientais lidam com numerosas amostras e a análise manual das amostras em uma sequência linear seria impraticável. Melhorar a frequência analítica é, portanto, vital para obter métodos rápidos de preparo de amostra (STUBLESKI *et al.*, 2018). A automatização dos métodos analíticos fornece uma série de vantagens, incluindo a extração de amostras simultaneamente, a redução do tempo de análise e a maior reprodutibilidade pela redução de erro humano, seja para análise de rotina ou no desenvolvimento de metodologias (LOPES *et al.*, 2018).

Muitas técnicas miniaturizadas de preparo de amostras podem ser automatizadas ou semiautomatizadas com a utilização de um sistema de amostragem consistindo em diversos poços de amostragem, possibilitando a realização simultânea de extrações e, posteriormente, dessorções em uma série de amostras. Os aparatos mais utilizados para esse fim são as placas de amostragem contendo 96 poços (*96-well plate*) e uma escova metálica consistindo em 96 pinos de amostragem. Um esquema dos constituintes desse sistema está representado na Figura 7 (A-C).

**Figura 7** - Constituintes de um sistema *96-well plate* para preparo de até 96 amostras. (A) poços para colocação das amostras (geralmente 1,5 mL de capacidade); (B) pente metálico para a colocação da fase extratora; (C) sistema utilizado para a extração



Fonte: Autoria própria (2018).

Nesse sistema, cada pente contém 12 pinos, nos quais podem ser imobilizadas as fases extratoras. A escova completa comporta até 8 pentes (12 pinos cada) e, com isso, até 96 amostras podem ser extraídas simultaneamente. Essa estratégia aumenta significativamente a frequência analítica de qualquer procedimento analítico.

A introdução do sistema *96-well plate* em 1996 foi um marco para a bioanálise e promoveu melhorias significativas nas técnicas paralelas de preparo de amostra (KAYE *et al.*, 1996). Desde então, várias estações de trabalho automáticas têm sido comercializadas, sendo a operação controlada sem intervenção humana, através de um mecanismo de realimentação (*feedback*). A Figura 8 ilustra um sistema completamente automatizado de preparo de amostra disponível comercialmente, onde é possível a integração de até quatro etapas de preparo de amostra (condicionamento, extração, limpeza e dessorção) ao sistema cromatográfico.

**Figura 8** – Dispositivo autoamostrador Concept 96 (*Professional Analytical Systems (PAS) Technology, Magdala, Germany*).



Fonte: (BOYACI *et al.*, 2014)

Atualmente, dispositivos simples e economicamente acessíveis de extração para o sistema *96-well plate* são comercializados, porém não permitem a integração das etapas de preparo de amostra ao sistema cromatográfico e os módulos de extração devem ser processados individualmente, com o auxílio de um operador. Contudo, a possibilidade de

desenvolver metodologias utilizando esses sistemas de extração, além de promover um significativo aumento na frequência analítica e aumentar a reprodutibilidade dos procedimentos, permite sua automatização caso disponha de um amostrador.

Diversas metodologias foram desenvolvidas utilizando o formato *96-well plate* para técnicas de microextração, incluindo a microextração em fase sólida com filme fino (TF-SPME) (BOYACI *et al.*, 2014; KIRSCHNER *et al.*, 2017) onde uma fina camada de fase extratora sólida é depositada sob os pinos do sistema de amostragem, a microextração em fase líquida com membrana oca (LOPES *et al.*, 2018), a microextração paralela com membranas artificiais líquidas (PALME) (ASK *et al.*, 2018; GJELSTAD *et al.*, 2013) e a extração paralela com eletromembrana (Pa-EME) (EIBAK *et al.*, 2014). Apesar de já terem sido reportados trabalhos promovendo a automatização de procedimentos SME em sistemas de solventes convencionais (KE *et al.*, 2014; LEE; LEE, 2011; VALLECILLOS; POCURULL; BORRULL, 2012), a possibilidade de automatização dessas técnicas com os MILs no sistema de *96-well plate* não foi estudada por nenhum outro grupo de pesquisa.

## CAPÍTULO III - OBJETIVOS

### 3.1.OBJETIVO GERAL

Desenvolver metodologias analíticas inovadoras e rápidas baseadas na Pa-SDME/MIL para a determinação de compostos desreguladores endócrinos em amostras aquosas ambientais e de agrotóxicos em amostras de urina, aliando a capacidade de extração dos MILs com o sistema semi-automático de “*96-well plate*” utilizando HPLC-DAD.

### 3.2.OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Sintetizar líquidos iônicos magnéticos e caracterizar mediante espectrofotometria UV-Vis e magnetômetro de amostra vibrante (VSM).
- Adaptar o sistema de *96-well plate* para promover extrações magnéticas com MILs, utilizando a técnica de Pa-SDME.
- Otimizar as separações cromatográficas por HPLC-DAD para os analitos.
- Otimizar as condições de extração por Pa-SDME/MIL para a determinação de parabenos, bisfenol A, benzofenona e triclocarban em amostras de água.
- Otimizar as condições de extração por Pa-SDME/MIL para a determinação dos agrotóxicos tebuconazol, pendimetalina, diclorodifenildicloroetano e diclorodifeniltricloroetano em amostras de urina.
- Determinar e avaliar os principais parâmetros analíticos de mérito dos métodos, como limite de detecção, limite de quantificação, faixa linear, coeficiente de determinação, precisão intermediária e reprodutibilidade.
- Avaliar a exatidão dos métodos através de ensaios de recuperação relativa em amostras aquosas ambientais e de urina e aplicar as metodologias desenvolvidas nessas amostras.

## CAPÍTULO IV

### DESENVOLVIMENTO DE UMA METODOLOGIA ANALÍTICA BASEADA NA PA-SDME/MIL ACOPLADA AO SISTEMA DE “96- WELL PLATE” PARA DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS DESREGULADORES ENDÓCRINOS EM AMOSTRAS AQUOSAS AMBIENTAIS

#### 4.1. INTRODUÇÃO

O preparo de amostras desempenha um papel crítico na análise química, especialmente quando se trata da determinação de compostos em níveis traço, uma vez que geralmente se fazem necessárias etapas de pré-concentração dos analitos e eliminação de compostos potencialmente interferentes da matriz a fim de se obter resultados precisos e exatos (SOUZA-SILVA *et al.*, 2015). As abordagens tradicionais de extração, como a extração líquido-líquido (LLE) e extração em fase sólida (SPE) podem ser trabalhosas, demoradas e geralmente demandam grandes quantidades de solventes orgânicos e/ou de amostras. Desta forma, a tendência atual no que concerne o desenvolvimento de metodologias de preparo de amostra direciona-se à simplificação e miniaturização dessas etapas e concentra-se na concepção de novas e inovadoras abordagens de microextração, permitindo o enriquecimento e o isolamento dos analitos em uma única etapa (BOYACI *et al.*, 2014). Idealmente, essas técnicas devem ser rápidas, simples, de baixo custo e compatíveis com uma ampla gama de instrumentação analítica (SARAFRAZ-YAZDI; AMIRI, 2010; SOUZA-SILVA *et al.*, 2015).

Diversas técnicas têm sido desenvolvidas e aprimoradas, sendo que as técnicas baseadas na microextração por solvente (SME), demonstradas por Dasgupta (LIU, H.; DASGUPTA, 1996) e Cantwell (JEANNOT; CANTWELL, 1997) na década de 1990, tem recebido particular destaque. A microextração em gota única (SDME) foi o primeiro modo SME de aplicação. Normalmente, a SDME envolve o uso de alguns microlitros de uma microgota de solvente orgânico mantida na ponta de uma microseringa, que é exposta diretamente na matriz líquida ou no *headspace* da amostra. Após a extração, a microgota é retirada e transferida para o instrumento analítico (KOKOSA, 2017). As principais vantagens da SDME incluem boa capacidade de extração, rápida transferência de massa, versatilidade, baixo custo e pouco ou nenhum efeito de memória (YAMINI; REZAZADEH; SEIDI, 2019). No entanto, algumas desvantagens significativas também

são observadas, especificamente em relação à instabilidade da microgota no modo de imersão direta, sob altas taxas de agitação, temperaturas elevadas e longos tempos de extração (FANG *et al.*, 2011; JEANNOT; PRZYJAZNY; KOKOSA, 2010).

Nas abordagens de SME, o solvente de extração tem uma influência significativa na eficiência da extração. Solventes convencionais como o 1-octanol, *n*-hexano, tolueno, dodecano e hexadecano apresentam desvantagens principalmente relacionadas à seletividade de extração e alta volatilidade, que podem prejudicar a eficiência e precisão da etapa de extração (CABALEIRO *et al.*, 2014; LOPES *et al.*, 2018; ROMÁN *et al.*, 2014; ŠRÁMKOVÁ *et al.*, 2018). Como resultado, solventes alternativos, como os líquidos iônicos (ILs) vêm sendo utilizados em uma série de procedimentos de microextração (LIU, J. *et al.*, 2003; NACHAM *et al.*, 2015).

Os ILs são sais fundidos com pontos de fusão iguais ou inferiores a 100 °C e possuem numerosas e vantajosas propriedades físico-químicas, tais como pressão de vapor baixa ou desprezível à temperatura ambiente, alta viscosidade e estabilidade química e eletroquímica. Além disso, suas estruturas químicas podem ser adaptadas para potencializar as interações com classes específicas de compostos e a grande possibilidade de combinações de cátions e ânions aumentam a gama de aplicabilidade desses solventes (TRUJILLO-RODRÍGUEZ *et al.*, 2016). Estudos envolvendo ILs como solventes de extração em SDME, tanto nos modos de imersão direta, quanto *headspace*, foram relatados para a determinação de uma variedade de analitos, incluindo hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (LIU, J. *et al.*, 2003), sulfonamidas (GUO *et al.*, 2012), bifenilas policloradas (STUBLESKI *et al.*, 2018), antidepressivos (DE BOECK *et al.*, 2018) e elementos traço (AMJADI; MANZOORI; ABULHASSANI, 2010) em várias matrizes biológicas e ambientais.

Recentemente, uma subclasse interessante de ILs, chamada de líquidos iônicos magnéticos (MILs), foi explorada em uma série de aplicações analíticas. Os MILs são produzidos pela incorporação de um componente paramagnético na estrutura do IL (em geral, ânions de metais de transição, de elementos terras-raras ou de complexos metálicos) e exibem uma forte resposta a um campo magnético externo. Por apresentarem propriedades magnéticas, os MILs têm a vantagem de simplificar a metodologia de extração e minimizar as fontes de erro devido a sua rápida recuperação da solução da amostra com o auxílio de um ímã (CLARK *et al.*, 2016a). A aplicação dos MILs como solvente de extração em SDME oferece uma série de vantagens, incluindo a não necessidade de uma microseringa para a formação da gota, o que permite volumes

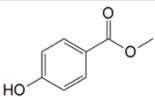
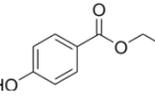
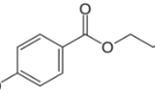
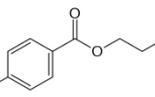
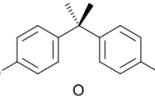
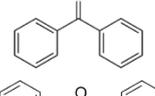
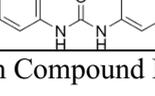
maiores de solvente em comparação com os solventes convencionalmente usados em SDME, bem como uma melhoria significativa na estabilidade da microgota (TRUJILLO-RODRÍGUEZ; PINO; ANDERSON, 2017). Esses solventes magnéticos são amplamente explorados em processos catalíticos (DÖBBELIN *et al.*, 2011) e na engenharia (SCOVAZZO *et al.*, 2014), mas já vem sendo explorados no universo de preparo de amostra, incluindo a DLLME (MERIB *et al.*, 2018; TRUJILLO-RODRÍGUEZ *et al.*, 2016; YU; MERIB; ANDERSON, 2016b), SDME (AN; RAHN; ANDERSON, 2017; TRUJILLO-RODRÍGUEZ; PINO; ANDERSON, 2017) e outras técnicas relacionadas (CHATZIMITAKOS, T. *et al.*, 2016; CLARK *et al.*, 2015).

O desenvolvimento de procedimentos analíticos automatizados que proporcionam uma redução no tempo de análise, maiores rendimento da amostra e reprodutibilidade por meio da redução de erro humano são altamente desejáveis (ALEXOVIČ *et al.*, 2018; KOCÚROVÁ; BALOGH; ANDRUCH, 2013; ŠRÁMKOVÁ *et al.*, 2018). Um importante avanço para facilitar a análise de alto rendimento é o uso de um sistema de placa de 96 poços, chamado de *96-well plate*, uma ferramenta poderosa que permite a extração simultânea de até 96 amostras em paralelo, reduzindo substancialmente o tempo demandado na etapa de preparo de amostra (EIBAK *et al.*, 2014; HUTCHINSON; SETKOVA; PAWLISZYN, 2007; LOPES *et al.*, 2018).

Tendo em vista a busca por configurações simples e eficientes para as técnicas de microextração, bem como a necessidade de metodologias analíticas de alto rendimento, este estudo relata, pela primeira vez, uma metodologia analítica baseada na SDME/MIL paralela (Pa-SDME/MIL) que combina as propriedades magnéticas, estabilidade da gota e capacidade de extração do MIL tetracloromanganato de trietil(tetradecil)fosfonio (II) ( $[P_{6,6,6,14}^{+}]_2[MnCl_4^{2-}]$ ) quando acoplado ao sistema de *96-well plate*. Os compostos desreguladores endócrinos metilparabeno, etilparabeno, propilparabeno, butilparabeno, bisfenol A, benzofenona e triclocarban foram selecionados como analitos modelo para o desenvolvimento deste método de baixo custo com separação/detecção por HPLC-DAD. Suas principais propriedades estão listadas na Tabela 4. Esses analitos foram selecionados devido ao seu potencial em provocar alterações no sistema endócrino de seres vivos. O termo “desreguladores endócrinos” (EDCs) se refere à substâncias ou misturas exógenas que promovem alterações no sistema endócrino, causando efeitos adversos sobre a saúde de um organismo. Esses compostos atuam por diversos mecanismos fisiológicos, podendo substituir, bloquear a ação ou alterar a quantidade hormonal original, causando um desbalanço das funções endócrinas (AKER *et al.*, 2016). Os EDCs contribuem para a

progressão de algumas desordens metabólicas incluindo a obesidade, a diabetes e endometriose. Além disso, são compostos pseudo-persistentes presentes no meio ambiente em concentrações traço, mas que estão associados a uma variedade de problemas de saúde, tais como danos reprodutivos, comprometimento do desenvolvimento e câncer em mulheres e homens (GIULIVO *et al.*, 2016). As otimizações foram realizadas através de estratégias uni e multivariadas e os parâmetros analíticos de mérito incluindo LOD, LOQ, faixa linear, fator de enriquecimento e precisão foram determinados, também sendo realizados ensaios de recuperação relativa dos analitos em amostras de água de lago, córrego e mangue, coletadas nas proximidades da Universidade Federal de Santa Catarina. Essa configuração experimental inovadora é um primeiro passo para o desenvolvimento de técnicas de microextração totalmente automatizadas baseadas em MIL, nas quais os recursos desses solventes são explorados e combinados com procedimentos de alto rendimento.

**Tabela 4** - Estruturas químicas e propriedades físico-químicas dos analitos estudados.

Composto	Estrutura Química	pKa	logK <sub>ow</sub>	Uso	Classe Química
Metilparabeno		8,9	2,0	Preservativo	Alquil éster do ácido 4-hidróxibenzóico
Etilparabeno		8,9	2,5	Preservativo	Alquil éster do ácido 4-hidróxibenzóico
Propilparabeno		8,2	2,9	Preservativo	Alquil éster do ácido 4-hidróxibenzóico
Butilparabeno		8,2	3,4	Preservativo	Alquil éster do ácido 4-hidróxibenzóico
Bisfenol A		10,3	3,2	Plastificante	Difenol
Benzofenona		-	3,4	Filtro UV	Benzofenonas
Triclocarban		12,8	5,3	Antisséptico	Feniluréia

Fonte: NCBI, PubChem Compound Database.

## 4.2. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

### 4.2.1. Reagentes e soluções

Os reagentes cloreto de trihexiltetradecil fosfônio  $[P_{6,6,6,14}^+][Cl^-]$  (97,7%), Aliquat® 336 (massa molecular média 442,00) e cloreto de manganês (II) tetra hidratado ( $MnCl_4 \cdot 4H_2O$ ) (98,0%) foram obtidos da Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA). Padrões analíticos de metilparabeno, etilparabeno, propilparabeno, butilparabeno, bisfenol A, benzofenona e triclocarban com grau de pureza 99,0 % foram adquiridos da Sigma-Aldrich (São, Paulo, Brasil). Acetonitrila (ACN) e metanol (MeOH) com grau HPLC foram comprados da JT Baker (Mallinckrodt, NJ, EUA). Para ajuste do pH, ácido clorídrico 0,1 mol L<sup>-1</sup> e hidróxido de sódio 0,1 mol L<sup>-1</sup> foram utilizados (Vetec, Rio de Janeiro, Brasil).

Soluções estoques individuais foram preparadas com concentração de 1000 mg L<sup>-1</sup> em metanol. Soluções metanólicas contendo a mistura dos analitos em 100 mg L<sup>-1</sup> e 10 mg L<sup>-1</sup> foram utilizadas para o desenvolvimento da metodologia proposta.

### 4.2.2. Preparo e caracterização das fases extratoras compostas por MILs

Para a síntese dos líquidos iônicos magnéticos  $[P_{6,6,6,14}^+]_2[MnCl_4^{2-}]$  e  $[Aliquat^+]_2[MnCl_4^{2-}]$ , 0,5 equivalente de  $MnCl_2 \cdot 4H_2O$  foi adicionado a 1 equivalente de  $[P_{6,6,6,14}^+][Cl^-]$  ou  $[Aliquat^+][Cl^-]$  em 10 mL de diclorometano. A reação foi realizada à temperatura ambiente por 24 h, sob agitação constante. Em seguida, o solvente foi removido utilizando-se um sistema de rotaevaporação e o produto obtido foi seco em estufa à vácuo à 70° C por 12 h. Os MILs foram caracterizados através de espectrofotometria UV-Vis e sua resposta ao campo magnético foi medida através de um magnetômetro de amostra vibrante (VSM) modelo 3473-70 (GMW Magnet Systems, San Carlos CA, EUA).

### 4.2.3. Instrumentação

Um cromatógrafo líquido modelo LC 20AT (Shimadzu, Kyoto, Japão) equipado com detector DAD modelo SPD-M20A, injeção manual modelo Rheodyne 7725i (Rohnert Park, CA, EUA) e alça de injeção de 20 µL foi utilizado. A separação foi realizada em fase reversa com uma coluna Thermo C18 (250 mm x 4.6 mm d.i., 5 µm de diâmetro de partícula) e vazão de 1 mL min<sup>-1</sup>. A fase móvel consistiu de: água (A) 50 % e ACN (B) 50 % isocrático de 0 - 4 min; em 4 - 5 min foi iniciado o gradiente até que A

atingisse 10%, sendo mantida essa condição até os 17 min. Para limpeza da coluna, entre 17 - 23 min foi mantido 100 % de B e a composição inicial foi restabelecida e equilibrada entre 23,5 e 26 min, conforme mostrado na Tabela 5. Os comprimentos de onda monitorados foram 260 nm para os parabenos, 226 nm, 255 nm e 265 nm para bisfenol A, benzofenona, e triclocarban, respectivamente.

**Tabela 5** - Modo gradiente otimizado para a separação por HPLC-DAD com vazão de 1 mL min<sup>-1</sup>.

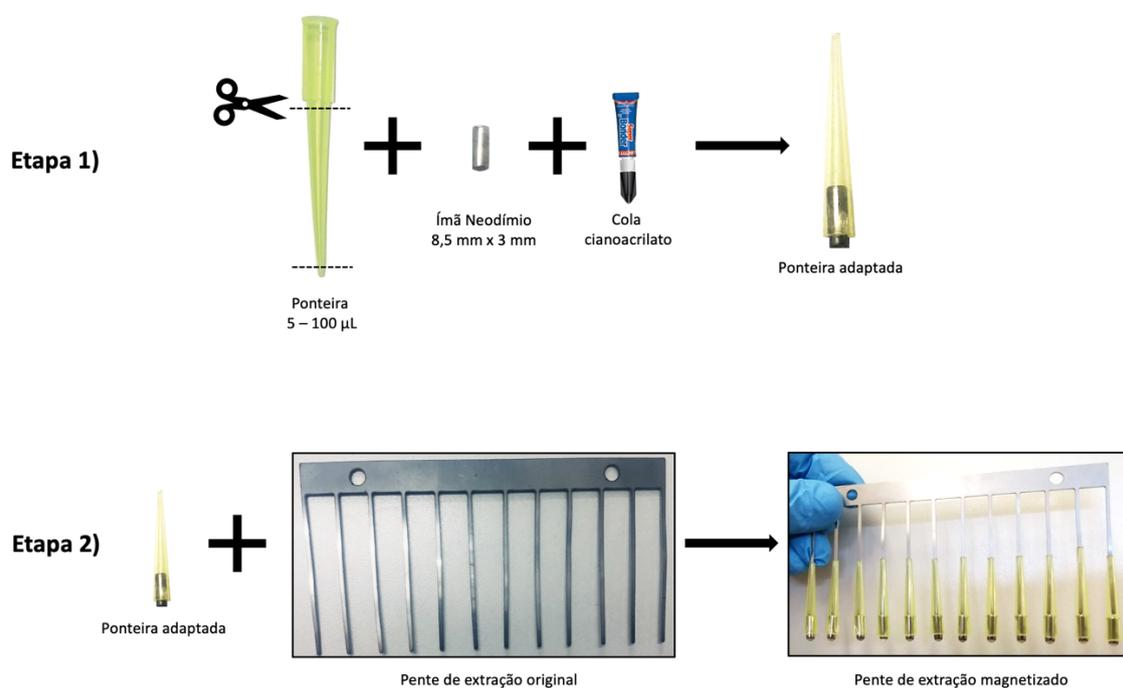
Tempo (min)	A (%)	B (%)	Analito	$\lambda_{max}$ (nm)
0 - 4	50	50	Parabenos	260
5 - 17	10	90	Bisfenol A	226
17,5 - 23	0	100	Benzofenona	255
23,5 - 26	50	50	Triclocarban	265

Um sistema *96-well plate* produzido pela Brüder Mannesmann Werkzeuge (Reimscheid, Alemanha) foi utilizado para auxiliar nas extrações. Ímãs de neodímio (N35, 3 mm x 8,5 mm, 0,595 Tesla) foram adquiridos na ÍmãShop (São Paulo, Brasil) e ponteiros para micropipetas tipo Gilson, sem filtro, com capacidade de 200  $\mu$ L adquiridas na Hexis (São Paulo, Brasil).

#### 4.2.4. Preparação do sistema de 96-well plate magnético

Para a produção de pentes de extração magnetizados, ímãs de neodímio (N35, 3 mm x 8,5 mm, 0,595 Tesla) foram inseridos nos pinos de um pente de extração utilizando as ponteiros como tubo guia e cola cianoacrilato para fixação, como representado na Figura 9. Dessa forma, os pentes produzidos podem reter ou atrair uma certa quantidade (mg) de MIL durante o procedimento de SDME devido às propriedades magnéticas do solvente.

**Figura 9** – Materiais utilizados para a preparação do pente de extração adaptado com ímãs de neodímio.



Fonte: Autoria própria (2018).

#### 4.2.5. Otimização do procedimento de Pa-SDME/MIL

As otimizações das condições de extração foram realizadas através de abordagens multivariadas e univariadas utilizando uma massa de  $5,3779 \pm 0,5508$  mg ( $n = 10$ ), correspondendo a 10 µL de MIL. A concentração dos analitos foi mantida em  $500 \mu\text{g L}^{-1}$  e 1,5 mL de água ultrapura foi utilizada em cada poço de extração. A eficiência de extração dos MILs  $[\text{P}_{6,6,6,14}^+ \text{MnCl}_4^{2-}]$  e  $[\text{Aliquat}^+]_2[\text{MnCl}_4^{2-}]$  foi avaliada através da extração, em triplicata, dos analitos em água ultrapura. Tempo de extração (30, 60, 90, 120 e 150 min) e pH (3, 6, 9) foram otimizados por meio de um planejamento Doehlert, totalizando 9 experimentos (incluindo triplicata no ponto central), conforme mostrado na Tabela 6. O volume de acetonitrila necessário para dissolução do MIL e posterior injeção no sistema cromatográfico foi otimizado univariadamente nos níveis 20, 50 e 80 µL ( $n = 3$ ). Todos os dados obtidos foram tratados com auxílio do software Statistica 8.0 (Round Rock, TX, EUA) e Excel 2016 (Redmond, WA, EUA).

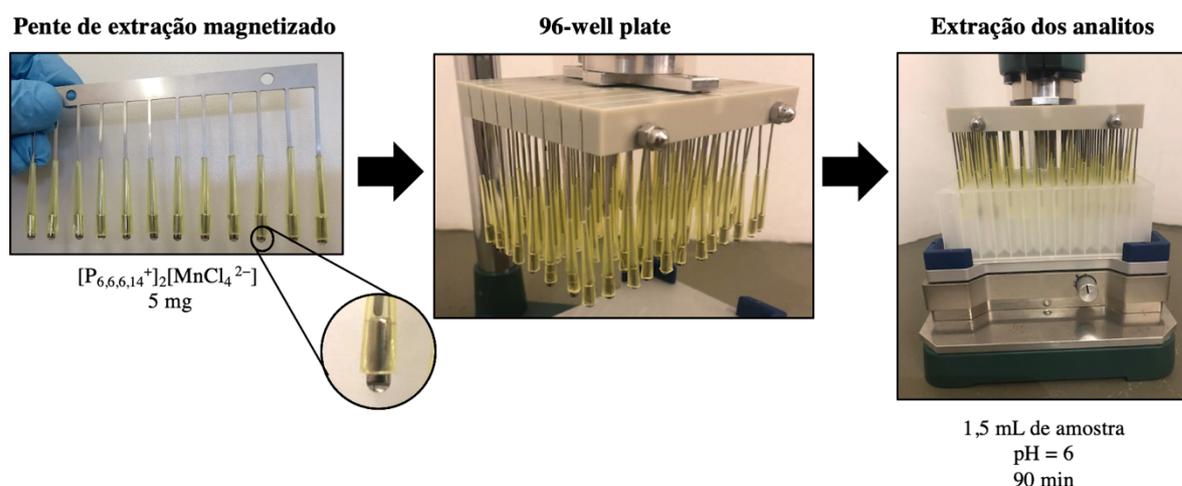
**Tabela 6** - Planejamento Doehlert para a otimização de tempo de extração e pH da amostra.

Experimento	Tempo de extração (min)	pH
1	60	3
2	120	3
3	60	9
4	120	9
5	30	6
6	150	6
7 (C)	90	6
8 (C)	90	6
9 (C)	90	6

#### 4.2.6. Preparo de amostra otimizado

Em poços de extração com capacidade de 2 mL foram transferidos 1,5 mL de amostra em pH = 6 e  $300 \mu\text{g L}^{-1}$  de cada analito. Com o auxílio de uma pipeta de Pasteur de vidro, aproximadamente 5 mg do MIL  $[\text{P}_{6,6,6,14}^+]_2[\text{MnCl}_4^{2-}]$  foram depositados na base de um ímã cilíndrico de neodímio (N35; 3 x 8,8 mm) fixado em cada pino do sistema *96 well-plate*. A extração ocorreu durante 90 min e, em seguida, a dissolução do MIL se deu com 20  $\mu\text{L}$  de acetonitrila em poços de dessorção com capacidade de 300  $\mu\text{L}$  e o extrato diluído foi analisado em HPLC-DAD. Um resumo do procedimento de extração otimizado pode ser mais bem visualizado nas Figura 10 e Tabela 7.

**Figura 10** - Esquema do procedimento de extração SDME/MIL.



Fonte: Autoria própria, (2018).

**Tabela 7** – Resumo das condições experimentais em cada etapa do procedimento de extração.

Etapa	Agitação	Tempo	Volume do poço	Volume preenchido	Solvente
Extração	500 rpm	90 min	2 mL	1,5 mL <sup>a</sup>	MIL
Diluição	500 rpm	5 seg	300 µL	20 µL <sup>b</sup>	Acetonitrila
Limpeza	500 rpm	3 seg	300 µL	50 µL <sup>c</sup>	Acetona

<sup>a</sup>Volume de amostra

<sup>b</sup>Volume de solvente de diluição

<sup>c</sup>Volume de solvente de limpeza

#### 4.2.7. Parâmetros analíticos de mérito e aplicação em amostras aquosas ambientais

A partir das condições otimizadas de procedimento de extração, parâmetros analíticos de mérito, incluindo a faixa linear de trabalho, precisão, fator de enriquecimento (EF), limite de detecção (LOD) e limite de quantificação (LOQ) e os coeficientes de determinação ( $R^2$ ) foram determinados. Curvas de calibração para cada analito foram construídas utilizando o método de adição de padrão em sete níveis de concentração ( $n = 3$ ), neste caso, concentrações conhecidas dos analitos foram adicionadas diretamente na amostra e submetidas à extração. Os limites de quantificação (LOQ) foram considerados como sendo os primeiros pontos da faixa linear de trabalho que forneceram resultados satisfatórios de precisão ( $\leq 20\%$ ) e limites de detecção (LOD)

foram calculados dividindo LOQ por 3,3. As precisões do método foram calculadas, baseadas no desvio padrão relativo (RSD). O fator de enriquecimento (EF) foi utilizado para avaliar a performance do método e foi calculado de acordo com a Equação 4 abaixo:

$$EF = \frac{C_{MIL}}{C_0} \quad (4)$$

Onde  $C_{MIL}$  é a concentração dos analitos após a extração e  $C_0$  é a concentração inicial dos analitos na solução aquosa.

A precisão intradia ( $n = 3$ ) foi avaliada no LOQ, em 50 e 500  $\mu\text{g L}^{-1}$  para cada analito e a precisão interdia (avaliada em 50  $\mu\text{g L}^{-1}$ ) foi realizada em três dias consecutivos ( $n = 9$ ). A exatidão do método foi avaliada mediante ensaios de recuperação relativa dos analitos, avaliando às respostas cromatográficas para três extrações realizadas em amostras de lago, córrego e mangue, previamente fortificadas com concentrações correspondentes ao LOQ, 50 e 500  $\mu\text{g L}^{-1}$  para cada analito.

As três amostras de águas superficiais foram coletadas com profundidade máxima de 20 cm nas proximidades da Universidade Federal de Santa Catarina, em frascos de vidro âmbar com capacidade de 1 L, sendo filtradas e armazenadas em refrigeração a 4 °C até posterior análise. Na Figura 11 encontram-se fotos dos locais de coleta, sendo uma amostra coletada em cada ponto: A) córrego universitário, B) lago universitário nas dependências do Hospital Universitário da UFSC e C) mangue do Itacorubi. O lago utilizado para coleta constantemente recebe depósito de esgotos hospitalar e doméstico e encontra-se em condições de eutrofização, tendo sua superfície completamente coberta por plantas e algas, como pode ser observado na Figura 11-B. Na Figura 12 é possível observar o mapa de satélite indicando os três locais de coleta com seus respectivos pontos de referência e distância média.

**Figura 11** - Fotos dos três pontos de coleta das amostras de água.



Fonte: Autoria própria (2018).

**Figura 12** – Pontos de coleta das amostras de água de (1) lago, (2) córrego e (3) mangue nas proximidades da Universidade Federal de Santa Catarina.



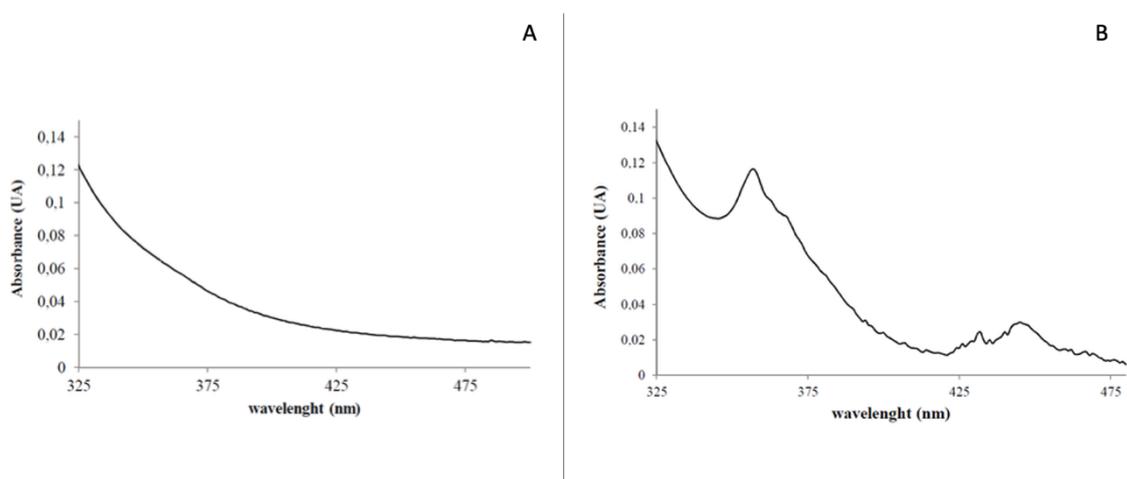
Fonte: Imagem de satélite obtida pelo *Google Earth*.

### 4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 4.3.1. Caracterização dos MILs

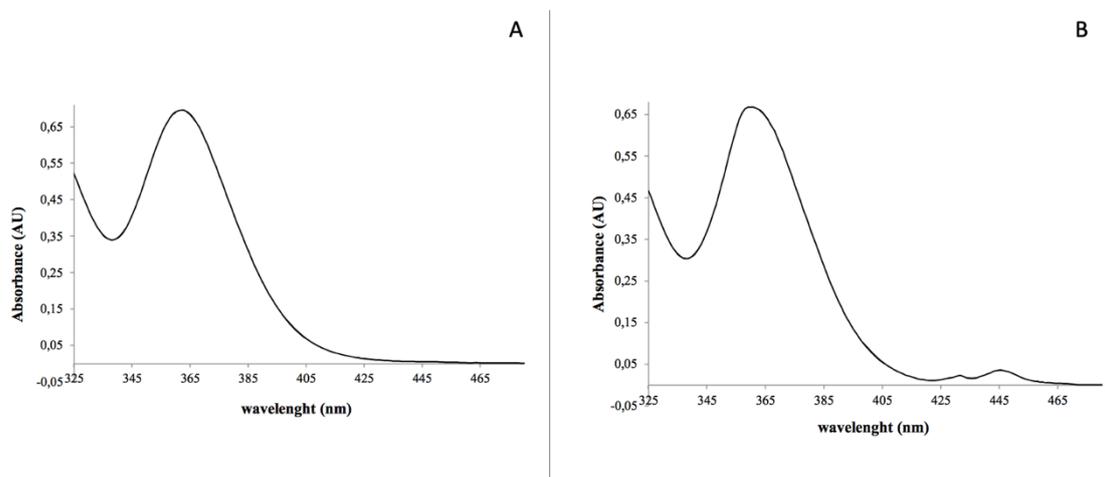
Após o preparo dos solventes de extração, a incorporação do componente paramagnético nos MILs foi verificada através de espectroscopia UV-Vis. Nas Figuras 13 e 14 estão representados os espectros de UV-Vis do A) IL antes da síntese e do B) MIL após a síntese, para a formação dos MILs de  $[\text{Aliquat}^+]$  e de  $[\text{P}_{6,6,6,14}^+]$ , respectivamente.

**Figura 13** - Espectro de UV-Vis a  $70 \text{ mg mL}^{-1}$  do A) IL  $[\text{Aliquat}^+][\text{Cl}^-]$  e do B) MIL  $[\text{Aliquat}^+]_2[\text{MnCl}_4^{2-}]$  em acetonitrila.



Fonte: Autoria própria (2018).

**Figura 14** – Espectro de UV-Vis a  $250 \text{ mg mL}^{-1}$  do A) IL  $[\text{P}_{6,6,6,14}^+][\text{Cl}^-]$  e do B) MIL  $[\text{P}_{6,6,6,14}^+]_2[\text{MnCl}_4^{2-}]$  em acetonitrila.

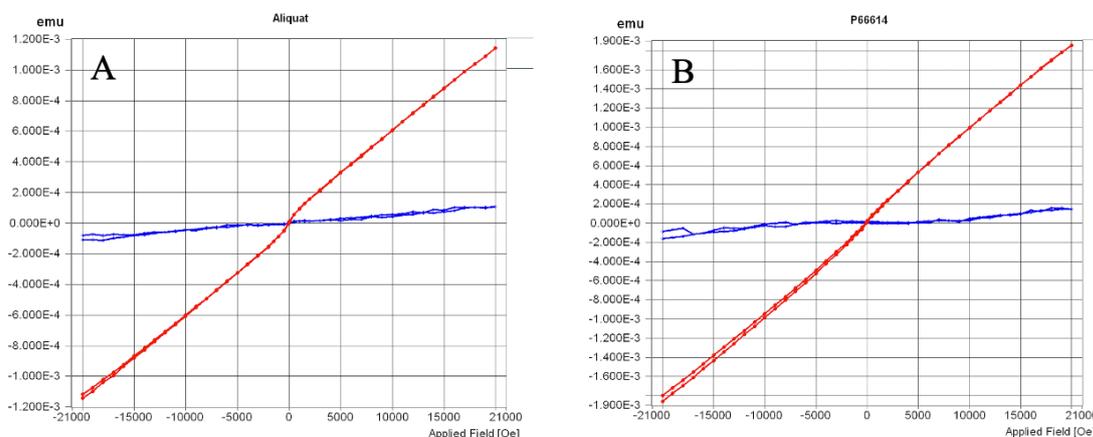


Fonte: Autoria própria (2018).

Conforme indicado nas Figuras 13B e 14B, espectros típicos de UV/Vis de  $Mn^{2+}$  coordenados tetraedricamente foram obtidos, nos quais dois grupos distintos de bandas foram observados na região UV/Vis para os MILs analisados, sendo que as primeiras bandas na região de 360 nm aparecem com intensidades muito maiores que as bandas em 440 nm. O ambiente de coordenação do  $Mn^{2+}$  também foi comprovado pela coloração amarelo-esverdeada, característica de coordenação tetraédrica, uma vez que os complexos com  $Mn^{2+}$  octaédrico tendem a ser vermelho pálido ou rosa (PITULA; MUDRING, 2010). Os mesmos resultados foram reportados anteriormente na literatura, utilizando a mesma classe de MILs de  $Mn^{2+}$  (MERIB *et al.*, 2018; YU; MERIB; ANDERSON, 2016b).

Os MILs também foram caracterizados por VSM, onde foi possível observar a resposta em *emu* ao campo magnético aplicado (-2 a 2 T). Os gráficos obtidos estão mostrados na Figura 15.

**Figura 15** - Magnetização dos MILs A)  $[Aliquat^+]_2[MnCl_4^{2-}]$  e B)  $[P_{6,6,6,14}^+]_2[MnCl_4^{2-}]$  medida à 295,15 K.

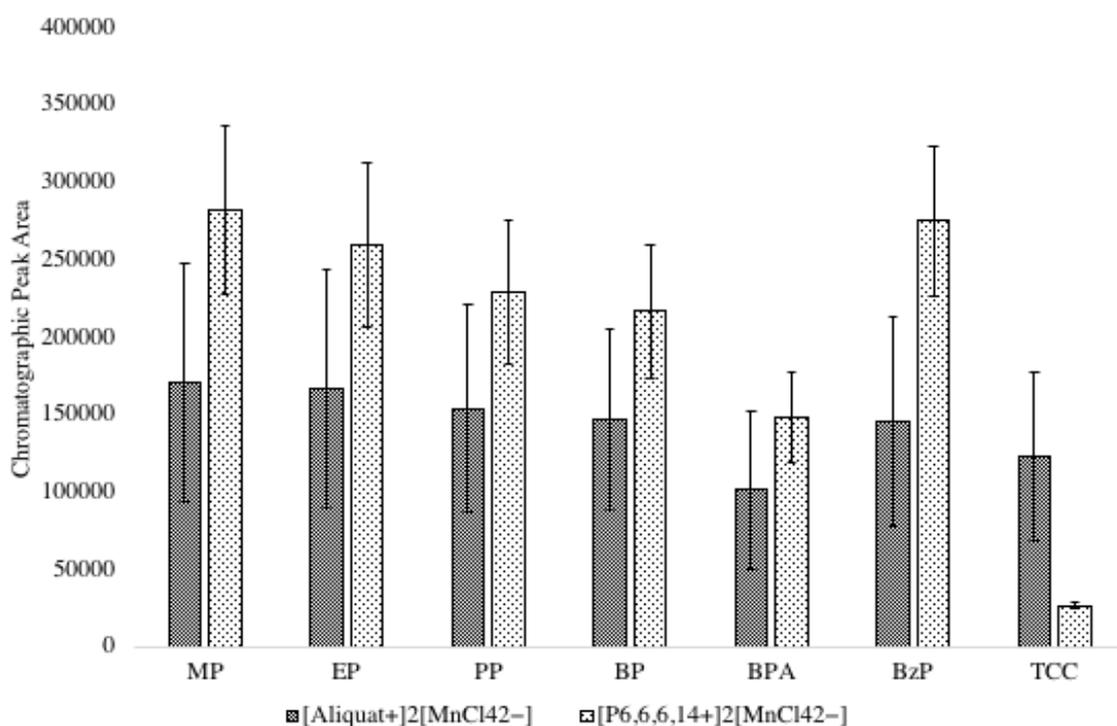


A partir dos dados da Figura 15, é possível calcular a susceptibilidade magnética dos MILs, utilizando a relação  $\chi = \frac{M}{H}$ , onde M corresponde à magnetização e H ao campo magnético aplicado. Os valores de  $\chi$  obtidos para os MILs  $[Aliquat^+]_2[MnCl_4^{2-}]$  e  $[P_{6,6,6,14}^+]_2[MnCl_4^{2-}]$  são 2,90 e 5,32  $\mu \cdot emu \cdot g^{-1} \cdot Oe^{-1}$ , respectivamente.

### 4.3.2. Comparação entre as eficiências de extração dos líquidos iônicos magnéticos

A natureza da fase extratora desempenha um papel importante em processos de microextração com solvente, sendo a escolha da fase extratora o parâmetro mais importante que precisa ser otimizado em procedimentos SDME. Características desejáveis de uma boa fase extratora incluem alta estabilidade, afinidade com os analitos e baixa volatilidade. Sendo assim, a eficiência de extração e estabilidade da gota diante de dois MILs  $[P_{6,6,6,14}^+]_2[MnCl_4^{2-}]$  e  $[Aliquat^+]_2[MnCl_4^{2-}]$  foi avaliada em uma otimização univariada. As áreas dos picos cromatográficos para cada analito foram monitoradas e um gráfico de barras comparando os dois solventes extratores é mostrado na Figura 16.

**Figura 16** - Escolha do MIL  $[P_{6,6,6,14}^+]_2[MnCl_4^{2-}]$  Vs  $[Aliquat^+]_2[MnCl_4^{2-}]$ .  
Analitos: MP: metilparabeno, EP = etilparabeno, PP = propilparabeno, BP = butilparabeno, BPA = bisfenol A, BzP = benzofenona e TCC = triclocarban.



Fonte: Autoria própria (2018).

Como observado, altas eficiências de extração foram obtidas quando  $[P_{6,6,6,14}^+]_2[MnCl_4^{2-}]$  foi utilizado, exceto no caso do TCC. Os valores obtidos pelas extrações com o MIL  $[Aliquat^+]_2[MnCl_4^{2-}]$ , contudo, apresentaram RSD % elevados e essa diferença entre as medidas se deu pela instabilidade do MIL durante o processo de

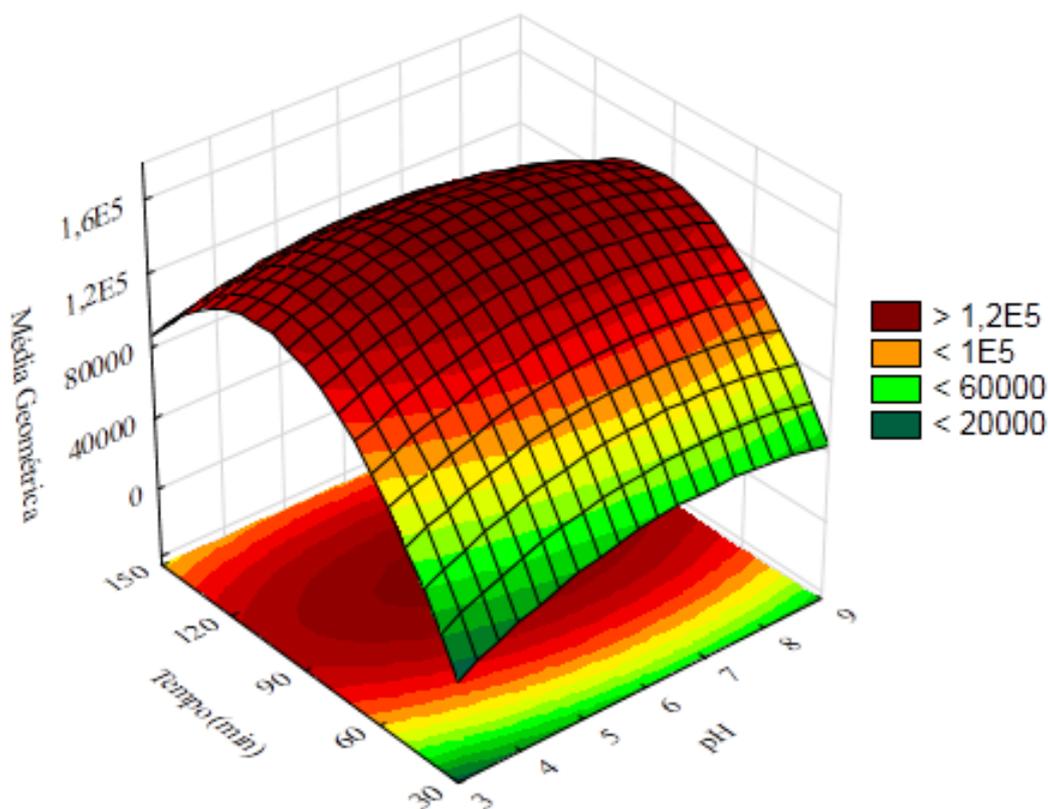
extração, onde uma considerável redução no volume da gota foi observada. Essa instabilidade da gota durante o período de extração pode ser atribuída à diferença de susceptibilidades magnéticas dos dois MILs estudados, com valores de  $\chi = 2,90$  e  $\chi = 5,32$  para os MILs de [Aliquat<sup>+</sup>] e [P<sub>6,6,6,14</sub><sup>+</sup>], respectivamente. Dessa forma, como o MIL de [Aliquat<sup>+</sup>] apresenta uma menor resposta ao campo magnético externo, a gota de solvente não permaneceu completamente atraída pelo ímã, havendo perda do MIL ao longo do tempo de extração requerido. Além disso, uma nítida diferença de viscosidade foi observada entre os MILs, no qual o MIL de [P<sub>6,6,6,14</sub><sup>+</sup>] apresentou viscosidade superior ao MIL de [Aliquat<sup>+</sup>]. A menor viscosidade do MIL de amônio também contribuiu para a perda de solvente durante o período de extração, reduzindo a reprodutibilidade entre as medidas. Dessa forma, o MIL [P<sub>6,6,6,14</sub><sup>+</sup>]<sub>2</sub>[MnCl<sub>4</sub><sup>2-</sup>] foi selecionado para o desenvolvimento da metodologia.

#### **4.3.3. Avaliação do pH da amostra e tempo de extração**

O pH é uma importante variável a ser investigada durante o desenvolvimento de uma metodologia analítica, principalmente no que diz respeito à extração de compostos ionizáveis. Para espécies ácidas, melhores eficiências de extração são obtidas quando o pH da amostra é ajustado para 1 ou 2 unidades abaixo do pKa dos analitos, uma vez que os analitos estão em sua forma não dissociada (SOUZA-SILVA *et al.*, 2015). Como o [P<sub>6,6,6,14</sub><sup>+</sup>]<sub>2</sub>[MnCl<sub>4</sub><sup>2-</sup>] possui características hidrofóbicas, os analitos não ionizados são preferencialmente extraídos nessa fase extratora. Tempo de extração é outra variável que pode afetar significativamente a resposta analítica. Uma vez que a SDME é uma técnica de equilíbrio, um certo tempo é requerido para que ocorra a transferência de massa e bons fatores de pré-concentração, com aceitáveis valores de RSD sejam atingidos.

Um planejamento Doehlert foi realizado para avaliar a influência das variáveis pH e tempo de extração na eficiência do preparo de amostra. Os níveis selecionados para investigação do pH foram 3, 6 e 9, enquanto o tempo de extração foi avaliado nos níveis 30, 60, 90, 120 e 150 min. A Figura 17 corresponde à superfície de resposta obtida nessa otimização, sendo a resposta obtida através da média geométrica das áreas de cada analito individualmente. Essa superfície representa uma condição compromisso entre as respostas individuais dos analitos, uma vez que todas as superfícies de resposta individuais tiveram comportamento semelhante, como pode ser observado no Anexo II.

**Figura 17** - Superfície de resposta com  $R^2 = 0,8307$  obtida pelo planejamento Doehlert para otimização de pH da amostra e tempo de extração.



Fonte: Autoria própria (2018).

**Tabela 8** - ANOVA referente ao planejamento Doehlert para otimização de pH e tempo de extração.

	SS	df	MS	F	p
pH (L)	1,296614 10 <sup>8</sup>	1	1,296614 10 <sup>8</sup>	0,37592	0,554971
pH (Q)	1,237149 10 <sup>9</sup>	1	1,237149 10 <sup>9</sup>	3,58680	0,090771
Tempo (L)	3,747625 10 <sup>9</sup>	1	3,747625 10 <sup>9</sup>	10,86528	0,009285
Tempo (Q)	1,095482 10 <sup>10</sup>	1	1,095482 10 <sup>10</sup>	31,76069	0,000319
pH Vs Tempo	2,877720 10 <sup>8</sup>	1	2,877720 10 <sup>8</sup>	0,83432	0,384842
Erro	3,104257 10 <sup>9</sup>	9	3,449175 10 <sup>8</sup>		
Total SS	1,833900 10 <sup>10</sup>	14			

Os valores de pH foram adotados considerando os valores de pKa dos analitos ionizáveis, que variam entre 8,2 e 12,8, e a estabilidade química do MIL  $[P_{6,6,6,14}^+ ]_2[MnCl_4^{2-}]$  em valores extremos de pH. Conforme indica a Figura 17 e a tabela ANOVA referente ao planejamento (Tabela 8), o pH da amostra, na faixa estudada, não exerce influência significativa na extração dos analitos a um nível de significância de 5%. Os resultados obtidos confirmam o comportamento esperado, visto que nessa faixa

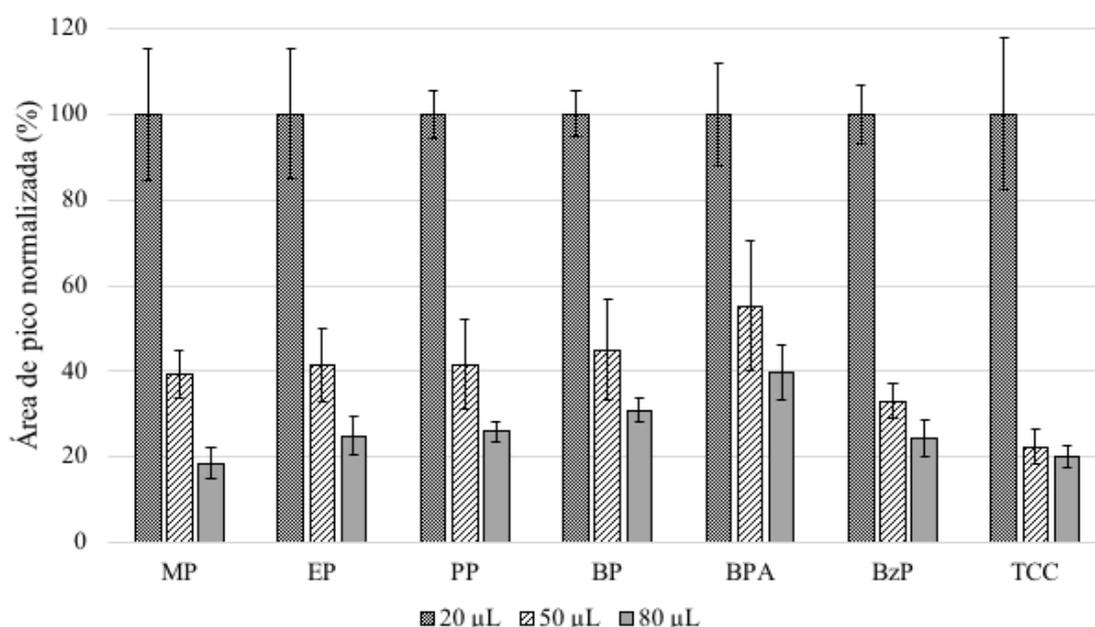
estudada os analitos apresentam-se em sua forma neutra, logo, o efeito do pH não é significativo. Então, foi selecionado pH = 6 para os próximos experimentos.

Com relação ao tempo de extração, melhores respostas analíticas foram obtidas entre 60 e 120 min, de tal modo, foi selecionado 90 min como condição compromisso a fim de não comprometer a frequência analítica do método e possibilitar a extração dos analitos, considerando os 96 poços de extração utilizados simultaneamente, em apenas 0,94 min por amostra.

#### 4.3.4. Avaliação do volume de solvente de dissolução

Por fim, foi avaliado o menor volume de acetonitrila necessário para promover a completa dissolução do MIL após o procedimento de extração, para subsequente análise no sistema cromatográfico. Os volumes 20, 50 e 80  $\mu\text{L}$  foram selecionados para estudo e, conforme demonstra a Figura 18, as melhores respostas cromatográficas foram obtidas utilizando 20  $\mu\text{L}$  de acetonitrila, o mínimo necessário para preencher a alça de injeção do cromatógrafo. A função do solvente nessa etapa da metodologia é apenas reduzir a viscosidade do MIL e diminuir danos ao equipamento analítico, como incrustação do MIL no injetor e coluna do HPLC. Dessa forma, o menor volume de solvente promove a menor diluição do extrato e, conseqüentemente, a maior resposta analítica.

**Figura 18** - Volume de acetonitrila para a dissolução do MIL.



Fonte: Autoria própria (2018).

#### 4.3.5. Parâmetros analíticos de mérito e aplicação do método

Após a otimização dos parâmetros para extração dos parabenos, bisfenol A, benzofenona e triclocarban, os parâmetros analíticos de mérito citados na seção experimental foram determinados. Os valores obtidos estão dispostos na Tabela 9. Como observado na Tabela 9, foram obtidos parâmetros analíticos de mérito aceitáveis para os compostos em estudo. Os limites de detecção foram  $3 \mu\text{g L}^{-1}$  para o triclocarban e  $1,5 \mu\text{g L}^{-1}$  para os demais analitos e os valores de  $R^2$  variaram entre 0,9942 e 0,9994 para o metilparabeno e butilparabeno, respectivamente. Os fatores de enriquecimento variaram de 10 a 14 vezes para benzofenona e propilparabeno, butilparabeno e triclocarban, respectivamente. Os valores de RSD no estudo da precisão intradia variaram entre 0,6 % para o butilparabeno e 21,3 % para o metilparabeno e da precisão interdia variaram entre 10,4 % para a benzofenona e 20,2 % para o butilparabeno. Esses resultados foram similares aos obtidos por Chatzimitakos e colaboradores que determinaram os níveis de compostos desreguladores endócrinos fenólicos em águas de esgoto, rio e lago utilizando o

MIL

[N<sub>8 8,8,1</sub>][FeCl<sub>4</sub>] e HPLC-DAD (CHATZIMITAKOS, T. *et al.*, 2016).

Para a avaliação da exatidão do método, amostras de água de lago (1), córrego (2) e mangue (3) foram fortificadas com concentrações conhecidas de cada analito e as análises foram realizadas em triplicata. Os valores obtidos são mostrados na Tabela 10.

**Tabela 9** - Parâmetros analíticos de mérito do método SDME/MIL proposto usando o MIL  $[P_{6,6,6,14}^+][MnCl_4^{2-}]$ .

Analito	R <sup>2</sup>	LOD <sup>a</sup> ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	LOQ <sup>b</sup> ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	EF	Faixa linear de trabalho ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Precisão (intradia) <sup>c</sup> , n=3			Precisão (interdia) <sup>c</sup> , n=9 (%) 50 $\mu\text{g L}^{-1}$
						LOQ	Precisão (%)		
							50 $\mu\text{g L}^{-1}$	500 $\mu\text{g L}^{-1}$	
Metilparabeno	0,9942	1,5	5	11	5-500	11,0	16,1	17,1	12,8
Etilparabeno	0,9976	1,5	5	11	5-500	12,1	21,3	20,2	14,5
Propilparabeno	0,9980	1,5	5	14	5-500	13,4	15,0	20,8	15,8
Butilparabeno	0,9994	1,5	5	14	5-500	14,3	0,6	14,6	20,2
Bisfenol A	0,9991	1,5	5	11	5-500	20,2	9,3	6,6	17,1
Benzofenona	0,9962	1,5	5	10	5-500	10,3	3,9	10,3	10,4
Triclocarban	0,9985	3	10	14	10-500	8,5	16,9	11,4	13,9

<sup>a</sup>LOD foi calculado dividindo LOQ/3,3.

<sup>b</sup>LOQ foi adotado como o primeiro ponto da faixa linear de trabalho.

<sup>c</sup>Precisões intradia e interdia foram calculadas baseadas em desvio padrão relativo (RSD).

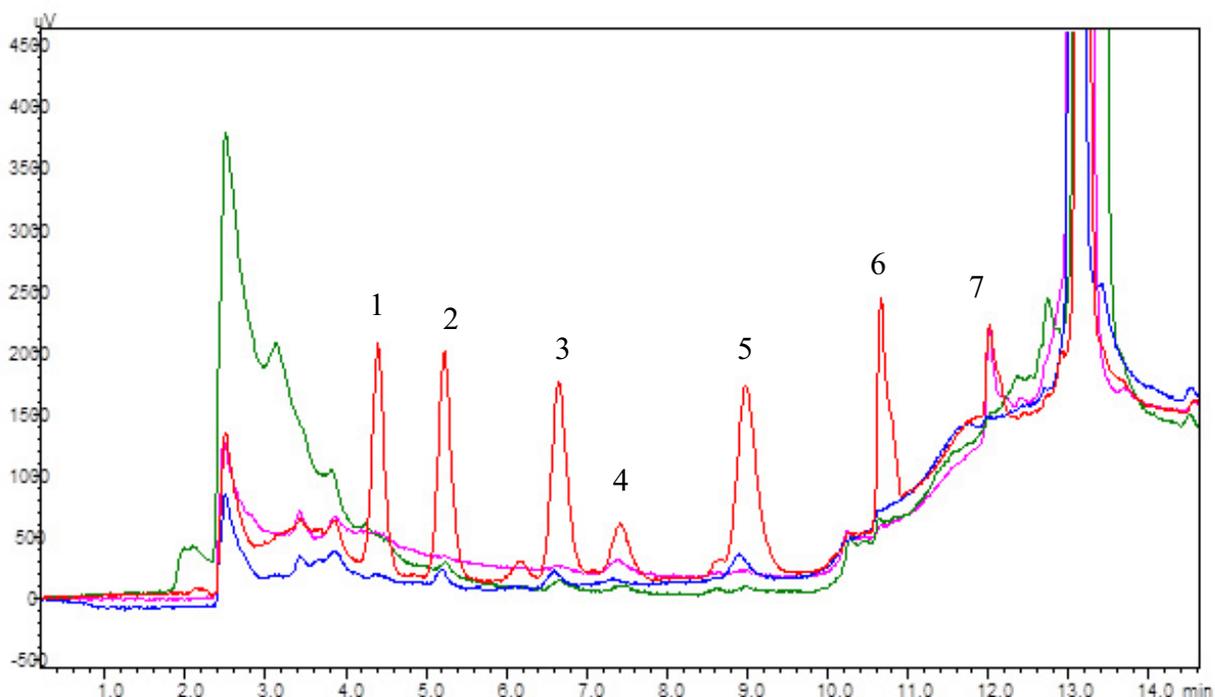
**Tabela 10** - Recuperações relativas e RSD% dos analitos para as amostras 1, 2 e 3 (n=3)

Analito	Amostra 1 <sup>a</sup>			Amostra 2 <sup>b</sup>			Amostra 3 <sup>c</sup>		
	LOQ (%)	50 $\mu\text{g L}^{-1}$ (%)	500 $\mu\text{g L}^{-1}$ (%)	LOQ (%)	50 $\mu\text{g L}^{-1}$ (%)	500 $\mu\text{g L}^{-1}$ (%)	LOQ (%)	50 $\mu\text{g L}^{-1}$ (%)	500 $\mu\text{g L}^{-1}$ (%)
Metilparabeno	99,7 ± 15,3	80,4 ± 2,2	79,9 ± 14,7	73,7 ± 12,2	90,2 ± 19,0	79,8 ± 18,7	71,5 ± 17,2	118,5 ± 14,7	120,5 ± 10,5
Etilparabeno	92,5 ± 9,2	78,3 ± 17,9	73,8 ± 8,2	102,6 ± 9,8	81,6 ± 17,7	70,1 ± 16,4	120,2 ± 10,4	105,4 ± 13,5	108,0 ± 9,6
Propilparabeno	109,3 ± 13,4	74,9 ± 18,9	66,0 ± 5,5	114,8 ± 17,9	90,1 ± 11,8	62,9 ± 10,4	120,0 ± 5,6	85,3 ± 14,2	96,1 ± 9,0
Butilparabeno	77,4 ± 1,8	72,2 ± 0,1	63,0 ± 7,9	109,0 ± 13,0	96,5 ± 14,2	64,0 ± 7,2	110,1 ± 12,2	72,8 ± 19,1	94,6 ± 9,2
Bisfenol A	126,4 ± 11,7	89,3 ± 12,6	64,5 ± 0,1	76,8 ± 15,7	85,2 ± 8,7	91,0 ± 11,9	116,5 ± 10,5	75,9 ± 13,8	112,8 ± 5,0
Benzofenona	92,5 ± 12,8	78,8 ± 9,4	80,0 ± 12,2	80,5 ± 9,4	104,0 ± 14,2	96,1 ± 8,2	81,7 ± 13,8	116,2 ± 17,6	119,9 ± 9,2
Triclocarban	88,3 ± 10,3	114,8 ± 15,3	85,5 ± 10,2	72,4 ± 1,1	101,5 ± 16,7	111,7 ± 6,3	69,5 ± 15,6	75,3 ± 17,9	105,4 ± 5,8

<sup>a</sup> Água de lago HU/UFSC<sup>b</sup> Água de córrego CU/UFSC<sup>c</sup> Água de mangue

As recuperações relativas dos analitos variaram entre 62,9 % para o propilparabeno e 126,4 % para o bisfenol A nos três níveis de fortificação estudados e foram consideradas satisfatórias, pois se enquadram dentro dos limites definidos pelas diretrizes da AOAC e da DG SANTE (AOAC, 2016; SANTE/12682/2019). Não foram detectados os analitos nas três amostras analisadas, considerando os limites de detecção do método. A Figura 19 representa os cromatogramas obtidos com a (verde) Amostra 1, (azul) Amostra 2, (rosa) Amostra 3 e (vermelho) cromatograma com 50 µg L<sup>-1</sup> de fortificação dos analitos.

**Figura 19** - Cromatogramas obtidos após a extração por SDME/MIL e determinação por HPLC-DAD para amostras de águas de lago (azul), córrego (verde) e mangue (rosa) e amostra fortificada com 50 µg L<sup>-1</sup> dos analitos (vermelho) monitorados em 265 nm. Ordem de eluição: 1, metilparabeno; 2, etilparabeno; 3, propilparabeno; 4, bisfenol A; 5, butilparabeno; 6, benzofenona; 7, triclocarban.



Fonte: Autoria própria (2018).

#### 4.3.6. Comparação do método com outros descritos na literatura

Por fim, a metodologia desenvolvida foi comparada com outras reportadas na literatura para determinação dos compostos estudados em amostras de águas ambientais que utilizam fases extratoras magnéticas. Algumas características das metodologias incluindo as técnicas de preparo de amostra e de separação empregadas, o tipo de fase extratora, tempo total de extração por amostra, limites de detecção e volume de amostra estão listados na Tabela 11.

**Tabela 11** - Comparação do método desenvolvido com outros reportados na literatura que utilizam fases extratoras magnéticas para determinação dos compostos estudados em matrizes aquosas.

Técnica de extração	Técnica de separação	Analitos	Fase extratora	Tempo total de extração por amostra	LOD ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Volume de amostra	Referência
SADBME <sup>1</sup>	HPLC-DAD	MP e BPA	$[\text{N}_{8,8,8,1}^+][\text{FeCl}_4^-]$	15 min	1,05 <sup>a</sup> e 10,8 <sup>c</sup>	30 mL	(CHATZIMITAKOS, T. <i>et al.</i> , 2016)
HS-SDME e DLLME	HPLC-DAD	BzP	$[\text{P}_{6,6,6,14}^+]_2[\text{MnCl}_4^{2-}]$	60 min	1,0	6 mL	(AN; RAHN; ANDERSON, 2017)
MSPE <sup>2</sup>	HPLC-UV	TCC	$\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{MMIPs}^4$	35 min	0,40	15 mL	(WANG, Xuemei <i>et al.</i> , 2018)
DMSPE <sup>3</sup>	GC-MS	MP, EP, PP e BP	$\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{MWCNT}^5$	24 min	1,44 <sup>a</sup> , 0,75 <sup>b</sup> , 0,15 <sup>c</sup> e 0,15 <sup>d</sup>	10 mL	(PASTOR-BELDA <i>et al.</i> , 2018)
Pa-SDME	HPLC-DAD	MP, EP, PP, BP, BPA, BzP e TCC	$[\text{P}_{6,6,6,14}^+]_2[\text{MnCl}_4^{2-}]$	90 min/0,94 min	1,5 <sup>a-f</sup> e 3 <sup>g</sup>	1,5 mL	Este estudo

Analitos: metilparabeno<sup>a</sup>, etilparabeno<sup>b</sup>, propilparabeno<sup>c</sup>, butilparabeno<sup>d</sup>, bisfenol A<sup>e</sup>, benzofenona<sup>f</sup> e triclocarban<sup>g</sup>.

<sup>1</sup>Microextração de quebra de gota assistida por agitação, do inglês *Stirring-Assisted Drop-Breakup Microextraction*.

<sup>2</sup>Extração em fase sólida magnética

<sup>3</sup>Extração em fase sólida magnética dispersiva

<sup>4</sup>Polímeros molecularmente impressos mesoporosos magnéticos

<sup>5</sup>Compósito magnético de nanotubos de carbono em multi-paredes.

Baseado na Tabela 11, o método proposto apresenta importantes características analíticas frente aos outros citados. Mesmo fazendo uso de pequenos volumes de amostra (apenas 1,5 mL), os limites de detecção alcançados são muito semelhantes aos reportados na literatura, até mesmo em comparação com detectores potencialmente mais sensíveis, como o MS. Pequenas quantidades de amostra são convenientes em casos em que não se tem grande quantidade disponível, como em bioanálises e em aplicações forenses. Contudo, o principal atributo da metodologia desenvolvida é sua elevada frequência analítica, pois o uso do sistema de amostragem em paralelo permitiu a extração eficiente dos analitos em até 96 amostras simultaneamente durante os 90 minutos de preparo de amostra (extração/diluição), o que leva a uma eficiência de 0,94 min por amostra. Além disso, os 26 minutos de análise cromatográfica também são considerados excelentes, considerando que uma etapa de limpeza e condicionamento da coluna estão contidos neste tempo. Nenhuma contaminação cruzada foi observada quando as extrações paralelas foram realizadas. Após cada ciclo de extração/diluição, os ímãs e poços de extração utilizados foram apropriadamente lavados e enxaguados com uma mistura de acetona e água para evitar qualquer contaminação. Essas são características atrativas que enfatizam os aspectos ambientalmente amigáveis e de alto rendimento dessa metodologia analítica na análise de matrizes aquosas ambientais.

#### 4.4. CONCLUSÕES PARCIAIS

A proposta de uma nova abordagem de microextração em gota única acoplada ao sistema de *96-well plate* permitiu a extração dos compostos metilparabeno, etilparabeno, propilparabeno, butilparabeno, bisfenol A, benzofenona e triclocarban em amostras aquosas ambientais com satisfatória eficiência. Os dados correspondentes aos parâmetros analíticos de mérito obtidos foram considerados satisfatórios e similares a estudos já reportados na literatura. A utilização de líquidos iônicos magnéticos como solventes extratores na técnica de SDME aumenta significativamente a estabilidade e volume da gota. As propriedades físico-químicas dos MILs incluindo hidrofobicidade, pressão de vapor negligenciável, estrutura química ajustável e facilidade de manuseio com o auxílio de um ímã, demonstram que os MILs são uma ferramenta atrativa e que podem ser explorados como solventes extratores para inúmeras técnicas de preparo de amostra. Juntamente com a nova abordagem de solvente extrator, a utilização do sistema semiautomatizado aumenta a frequência analítica do método, pois possibilita a extração de até 96 amostras simultaneamente, reduzindo o tempo global de preparo de amostra.

Essa característica torna a metodologia desenvolvida bastante interessante para casos onde haja necessidade de analisar um grande número de amostras, como em aplicações de rotina e forenses. Esse trabalho foi recentemente publicado em uma revista indexada da área (MAFRA *et al.*, 2019).

## CAPÍTULO V

### AMPLIANDO A APLICABILIDADE DA TÉCNICA PA-SDME/MIL PARA A DETERMINAÇÃO DE AGROTÓXICOS EM URINA HUMANA

#### 5.1. INTRODUÇÃO

Os agrotóxicos são produtos químicos ou agentes biológicos capazes de eliminar pragas vegetais ou animais; são utilizados tanto em atividades agrícolas quanto no ambiente urbano (YUSA *et al.*, 2015). Alguns desses compostos são tóxicos não só para os organismos-alvo, mas também podem causar uma série de efeitos deletérios para a saúde humana (FERNÁNDEZ, S. F. *et al.*, 2020). As principais vias de exposição humana consistem na ingestão de alimentos e água, e inalação ou contato dérmico com fontes de contaminação. Doenças crônicas como câncer e diabetes, bem como problemas de reprodução, têm sido frequentemente associadas com agrotóxicos (MOSTAFALOU; ABDOLLAHI, 2013; NTZANI *et al.*, 2013; VIGHI; MATTHIES; SOLOMON, 2017).

O tebuconazol (TBZ) é um fungicida triazol com toxicidade comprovada, geralmente aplicado em culturas agrícolas e vinhedos, sendo considerado um composto disruptor endócrino (TAXVIG *et al.*, 2007; TRÖSKEN *et al.*, 2004). A exposição ao TBZ pode ocorrer devido à ingestão de alimentos e bebidas contaminados, durante sua aplicação por trabalhadores agrícolas e residentes em áreas rurais (FONTANA *et al.*, 2011). Além disso, TBZ foi detectado em vinhos e vegetais (FONTANA *et al.*, 2011; WU *et al.*, 2014). O herbicida pendimetalina (PDM) é uma dinitroanilina usada para controlar gramíneas e ervas daninhas em uma ampla gama de áreas de cultivo, atuando na inibição da divisão de células vegetais (STRANDBERG; SCOTT-FORDSMAND, 2004). Devido ao seu uso difundido e importância dos estudos sobre a PDM, recentemente a Autoridade Europeia de Segurança Alimentar (EFSA, do inglês *European Food Safety Authority*) publicou uma revisão sobre a avaliação de risco da PDM e estudos sobre sua persistência, bioacumulação e toxicidade já foram relatados ((EFSA), 2016; VIGHI; MATTHIES; SOLOMON, 2017). O diclorodifeniltricloroetano (DDT), historicamente um dos inseticidas mais usados e famosos, ainda hoje é usado em algumas áreas para controlar doenças transmitidas por insetos, especialmente a malária (HARADA *et al.*, 2016). DDT e seus produtos de transformação, como o

diclorodifenildicloroetileno (DDE) e diclorodifeniltricloroetano (DDD) têm sido estudados por seu potencial em desregular o sistema endócrino, toxicidade e carcinogenicidade (D'AMATO; TORRES; MALM, 2002).

A exposição humana a agrotóxicos pode ser realizada monitorando amostras ambientais, como ar, água e alimentos, ou monitorando diretamente fluidos biológicos como urina, sangue ou leite materno. Sua determinação em fluidos biológicos é uma ferramenta promissora, especialmente utilizando matrizes de coleta não invasiva, como urina e saliva (FERNÁNDEZ, S. F. *et al.*, 2020). Alguns exemplos de agrotóxicos que podem ser encontrados na urina consistem em TBZ e PDM, que são principalmente metabolizados e excretados na urina, e não apresentam o potencial de bio-acumulação. Esses compostos já foram identificados na urina humana em suas formas livres e conjugadas ((EFSA), 2016; MACHADO *et al.*, 2019; MERCADANTE, R *et al.*, 2014). Recentemente, DDT e seus principais metabólitos DDD e DDE também foram encontrados em amostras de sangue e urina (TSYGANKOV *et al.*, 2017).

As matrizes biológicas consistem em um desafio para a análise química devido à presença de sais, proteínas e uma grande variedade de compostos orgânicos (ABDEL-REHIM *et al.*, 2020). Portanto, um procedimento de preparo de amostra se faz importante na maioria dos casos (SILVEIRA *et al.*, 2019). Para tal, técnicas de preparo de amostra de alto rendimento tem sido desenvolvidas e exploradas em uma série de aplicações (NAVITHA REDDY; DILIP ZAGADE; SENGUPTA, 2019).

As técnicas de microextração são consideradas o estado-da-arte do preparo de amostras, permitindo o baixo consumo de solventes, análise rápida e altos fatores de enriquecimento (SEIDI; REZAZADEH; ALIZADEH, 2018). A microextração de gota única (SDME) é uma abordagem interessante, que emprega uma microgota de solvente orgânico que pode estar exposta diretamente na matriz aquosa ou no *headspace* amostral, com o auxílio de uma microseringa; desta forma, essa microgota pode ser diretamente transferida para o instrumento analítico, após a extração dos analitos. As principais vantagens da SDME incluem a alta capacidade de extração, baixo custo e ausência de efeito de memória. No entanto, a instabilidade da gota no modo de imersão direta, temperaturas de trabalho limitadas e longos tempos de extração são desvantagens desta técnica (ABDEL-REHIM *et al.*, 2020).

Vários estudos têm se concentrado na síntese e elaboração de novos solventes que possam aumentar a eficiência da extração e promover alternativas eficientes, seletivas e mais verdes às abordagens convencionais (MACIEL *et al.*, 2019). Nesse sentido, há uma

classe recente e promissora de solventes chamados líquidos magnéticos iônicos (MILs) que exibem um componente paramagnético em sua estrutura. Esses solventes exibem propriedades físico-químicas únicas, como baixa volatilidade, capacidade de solvatação múltiplas para compostos de diferentes polaridades, baixa inflamabilidade e alta estabilidade térmica, além de apresentar uma forte resposta quando submetidos a um campo magnético. Além disso, devido à possibilidade de separação magnética e fácil reciclagem, os MILs são considerados mais verdes do que os IL convencionais. Essas propriedades podem ser muito úteis em aplicações SDME, especialmente porque a microgota de MIL pode ser suportada com o auxílio de um ímã, aumentando significativamente a estabilidade da gota (AN; RAHN; ANDERSON, 2017; CLARK *et al.*, 2015).

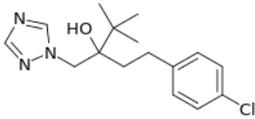
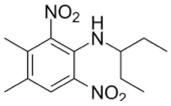
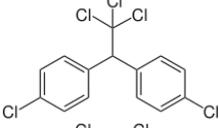
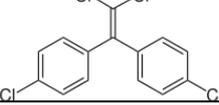
Recentemente, uma série de novos estudos envolvendo MILs foram relatados em aplicações bioanalíticas (CLARK; ZHU; ANDERSON, 2019; HICE *et al.*, 2019; VARONA; ANDERSON, 2019). Os MILs já foram aplicados com sucesso para a extração de ácidos nucleicos, como DNA, e um estudo recente comprovou a compatibilidade de MILs com a análise de PCR (EMAUS; VARONA; ANDERSON, 2019). Especificamente relacionado a amostras biológicas, estudos envolvendo MILs compatíveis com HPLC foram relatados para a extração de hormônios e na determinação multiclasse em urina humana (MERIB *et al.*, 2018; WILL, *et al.*, 2020).

Mais recentemente, os esforços têm sido dedicados a melhorar a frequência analítica das metodologias analíticas baseadas em MIL. Nosso grupo de pesquisa desenvolveu uma estratégia envolvendo a fabricação de um sistema de placas de 96 poços contendo um conjunto de pinos magnéticos, que foi apresentada no Capítulo IV (MAFRA *et al.*, 2019). Esta configuração, designada como microextração de gota única paralela (Pa-SDME), contornou alguns problemas associados à estabilidade da gota e permitiu a extração simultânea de até 96 amostras. Esse fato aumentou drasticamente a frequência analítica da metodologia e exhibe o potencial a ser explorado em diversas aplicações bioanalíticas.

Nesse contexto, este trabalho relata, pela primeira vez, uma metodologia analítica baseada em Pa-SDME/MIL para o rápido monitoramento dos agrotóxicos TBZ, PDM, DDT e DDE em urina humana. As estruturas químicas e principais propriedades desses analitos estão listadas na Tabela 12. O MIL  $[P_{6,6,6,14}^+]_2[MnCl_4^{2-}]$  foi utilizado como solvente de extração e a separação/detecção foi realizada por HPLC-DAD. As condições

experimentais foram otimizadas, sendo a metodologia comparada com estudos previamente relatados na literatura.

**Tabela 12** – Estruturas químicas e propriedades físico-químicas dos analitos.

Abreviação	Classe	Estrutura	Fórmula	Massa molar (g mol <sup>-1</sup> )	pKa	logK <sub>ow</sub>
TBZ	Fungicida		C <sub>16</sub> H <sub>22</sub> ClN <sub>3</sub> O	307,82	2,01 13,85	3,69
PDM	Herbicida		C <sub>13</sub> H <sub>19</sub> N <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	281,31	10,52	4,82
DDT	Inseticida		C <sub>14</sub> H <sub>9</sub> Cl <sub>5</sub>	354,48	- <sup>c</sup>	6,46
DDE	Inseticida		C <sub>14</sub> H <sub>8</sub> Cl <sub>4</sub>	318,02	- <sup>c</sup>	6,11

<sup>c</sup> Não ionizável.

## 5.2. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

### 5.2.1. Reagentes e soluções

Padrões analíticos de tebuconazol (TBZ), pendimetalina (PDM), diclorodifeniltricloroetano (DDT) e diclorodifenildicloroetileno (DDE) com grau de pureza 99,0 % foram adquiridos da Sigma-Aldrich (São, Paulo, Brasil). Os reagentes cloreto de trihexiltetradecil fosfônio [P<sub>6,6,6,14</sub><sup>+</sup>][Cl<sup>-</sup>] (97,7%), Aliquat ® 336 (massa molecular média 442,00) e cloreto de manganês (II) tetra hidratado (MnCl<sub>4</sub>·4H<sub>2</sub>O) (98,0%) foram obtidos da Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA). Acetonitrila (ACN) e metanol (MeOH) com grau HPLC foram comprados da JT Baker (Mallinckrodt, NJ, EUA). Água ultrapura (18.2 MΩ cm<sup>-1</sup>) foi preparada utilizando-se o sistema de purificação MegaPurity (Billerica, MA, EUA). Para ajuste da força iônica, cloreto de sódio foi adquirido da VETEC (Rio de Janeiro, Brasil). Soluções estoques individuais foram preparadas com concentração de 1000 mg L<sup>-1</sup> em metanol. Soluções de trabalho contendo a mistura dos analitos em 100 mg L<sup>-1</sup> e 10 mg L<sup>-1</sup> foram preparadas em acetonitrila e utilizadas para o desenvolvimento da metodologia proposta.

### 5.2.2. Preparo das fases extratoras compostas por MILs

Os solventes extratores compostos por  $[P_{6,6,6,14}^+]_2[MnCl_4^{2-}]$  e  $[Aliquat^+]_2[MnCl_4^{2-}]$  foram preparados conforme descrito no capítulo anterior utilizando a razão 2:1 dos IL e sal de manganês. Uma descrição detalhada dos cálculos empregados para a síntese está descrita no ANEXO I desse trabalho. Diclorometano foi utilizado como solvente. A reação foi realizada à temperatura ambiente por 24 h, sob agitação constante. Em seguida, o solvente foi removido utilizando sistema de rota- evaporação e o produto obtido foi seco em estufa à vácuo à 70° C por 12 h.

### 5.2.3. Instrumentação

Um cromatógrafo líquido modelo LC 20AT (Shimadzu, Kyoto, Japão), equipado com detector DAD modelo SPD-M20A, injeção manual modelo Rheodyne 7725i (Rohnert Park, CA, EUA) e alça de injeção de 20 µL foi utilizado. A separação foi realizada em fase reversa com uma coluna Agilent Zorbax-C18 (250 mm x 4.6 mm, 5 µm) e vazão de 1 mL min<sup>-1</sup>. A fase móvel consistiu em: água (A) 35 % e ACN (B) 65 % de 0 - 4 min; a concentração de A foi diminuída para 25 % de 4 - 5 min e entre 5 - 8 min foi reduzida para 7 %. Esta condição foi mantida até os 18 min de análise cromatográfica. Após a separação dos quatro analitos, o protocolo de limpeza da coluna deu-se da seguinte forma: 100 % de B entre 18,1 - 25 min, então a composição inicial foi reestabelecida e mantida até o final da análise, aos 30 min, conforme indica a Tabela 13. Os comprimentos de onda monitorados foram 225 nm para tebuconazol e 235 nm para os demais analitos.

**Tabela 13** - Modo gradiente otimizado para a separação por HPLC-DAD com vazão de 1 mL min<sup>-1</sup>.

Tempo (min)	A (%)	B (%)	Analito	$\lambda_{max}$ (nm)
0 - 4	35	65	Tebuconazol	225
4 - 5	25	75	Pendimetalina	235
5 - 8	7	93	DDT	235
8 - 18	7	93	DDE	235
18 - 18,1	0	100		
18,1 - 25	0	100		
25,1 - 30	35	65		

O sistema de extração desenvolvido no capítulo anterior foi utilizado para auxiliar na etapa de preparo de amostra. Para tal, o sistema de *96-well plate* semiautomatizado produzido pela Brüder Mannesmann Werkzeuge (Remscheid, Alemanha), assim como ímãs de neodímio (N35, 3 mm x 8,5 mm, 0,595 Tesla) adquiridos na ÍmãShop (São Paulo, Brasil) e ponteiras para micropipetas tipo Gilson, sem filtro, com capacidade de 200 µL adquiridas na Hexis (São Paulo, Brasil) foram utilizados para adaptar o instrumento para as extrações com MILs.

#### 5.2.4. Otimização das condições experimentais

Os parâmetros do método Pa-SDME/MIL que podem influenciar a extração dos analitos foram avaliados utilizando estratégias multivariadas e univariadas. Todas as otimizações foram realizadas com 1,5 mL de urina diluída obtida por um voluntário fortificada com 500 µg L<sup>-1</sup> de cada analito e 5,3779 ± 0,5508 mg de MIL. Os experimentos foram conduzidos na seguinte ordem:

- I. Escolha do solvente extrator: nessa etapa, uma otimização univariada foi utilizada para avaliar a eficiência de extração dos MILs  $[P_{6,6,6,14}^+][MnCl_4^{2-}]$  e  $[Aliquat^+][MnCl_4^{2-}]$  com urina diluída 30x e 60 min de extração ( $n = 3$ ). Um gráfico de barras construído utilizando a média aritmética das áreas dos analitos foi empregado para considerar os resultados obtidos.
- II. Diluição da urina: a diluição da urina foi estudada univariadamente nos níveis 10, 20, 30 e 40x de diluição ( $n = 3$ ). As extrações foram realizadas com o MIL  $[P_{6,6,6,14}^+][MnCl_4^{2-}]$  por 60 min de extração. Os resultados foram avaliados utilizando a média normalizada das áreas dos picos cromatográficos dos analitos.
- III. Tempo de extração e adição de sal: por fim, um planejamento Doehlert foi utilizado para otimizar o tempo de extração (60, 90, 120, 150 e 180 min) e a concentração de NaCl (0, 5 e 10 % m/V), totalizando 9 experimentos (incluindo triplicata no ponto central), conforme mostrado na Tabela 14. As variáveis otimizadas nos experimentos anteriores foram utilizadas nessa etapa, sendo o MIL  $[P_{6,6,6,14}^+][MnCl_4^{2-}]$  e urina com diluição de 10x. Os dados gerados foram tratados com o auxílio do software Excel 2016 (Redmond, WA, EUA) e as superfícies de resposta foram geradas com o auxílio do software Statística 13 (Round Rock, TX, EUA) a partir da média geométrica das áreas cromatográficas.

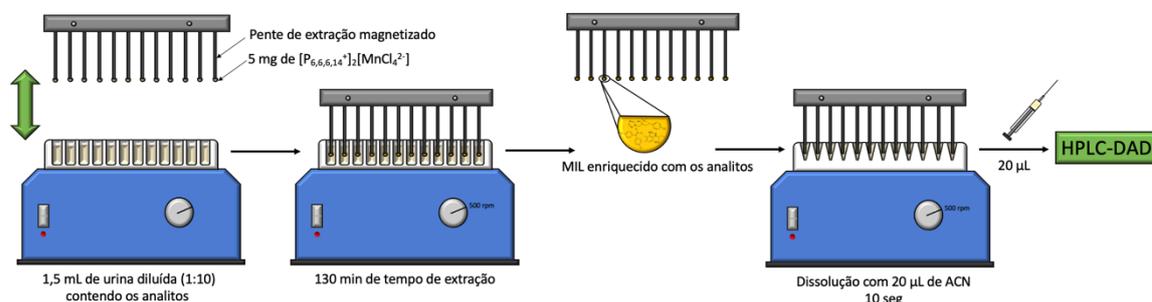
**Tabela 14** - Planejamento Doehlert para a otimização de tempo de extração e concentração de NaCl da amostra.

Experimento	Tempo de extração (min)	NaCl (%)
1	60	0
2	120	0
3	60	10
4	120	10
5	30	5
6	150	5
7 (C)	90	5
8 (C)	90	5
9 (C)	90	5

#### 5.2.5. Procedimento otimizado da Pa-SDME/MIL

Para esse trabalho, foi utilizado o sistema de *96-well plate* adaptado com ímãs de neodímio, conforme descrito no capítulo anterior. Uma massa de  $5.38 \pm 0.55$  mg ( $n = 10$ ) do MIL  $[P_{6,6,6,14}^+]_2[MnCl_4^{2-}]$  foi depositada na base de um ímã cilíndrico de neodímio (N35; 3 x 8,8 mm) fixado em cada pino do sistema *96 well-plate*. Um volume de 1,5 mL de urina diluída (1:10) contendo os analitos foi transferido para os poços de extração e a extração procedeu por 130 min a uma agitação de 500 rpm. Terminada essa etapa, o MIL enriquecido com os analitos foi dissolvido com 20  $\mu$ L de acetonitrila em poços de dessorção e o extrato diluído foi analisado por HPLC-DAD. Em casos onde não fosse possível a análise instrumental imediatamente após o preparo de amostra, os extratos diluídos foram transferidos para frascos *Eppendorf* devidamente vedados e armazenados no freezer a  $-15$  °C por pelo menos 4 dias sem evaporação de solvente e mantendo a reprodutibilidade dos sinais analíticos. Um esquema do procedimento de extração otimizado está descrito na Figura 20 e um resumo das condições de preparo de amostra pode ser visualizado na Tabela 15.

**Figura 20** - Esquema do procedimento de extração Pa-SDME/MIL.



Fonte: Autoria própria (2020).

**Tabela 15** – Resumo das condições experimentais em cada etapa do procedimento de extração por Pa-SDME/MIL para a determinação de agrotóxicos em urina humana.

Etapa	Agitação	Tempo	Volume do poço	Volume preenchido	Solvente
Extração	500 rpm	130 min	2 mL	1.5 mL <sup>a</sup>	MIL
Diluição	500 rpm	10 seg	300 µL	20 µL <sup>b</sup>	Acetonitrila
Limpeza	500 rpm	5 seg	300 µL	50 µL <sup>c</sup>	Acetona

<sup>a</sup>Volume de amostra

<sup>b</sup>Volume de solvente de diluição

<sup>c</sup>Volume de solvente de limpeza

### 5.2.6. Parâmetros analíticos de mérito e aplicação do método

Os parâmetros analíticos de mérito foram obtidos a partir de curvas de calibração utilizando o método de adição de padrão em cinco níveis de concentração ( $n = 3$ ). Os limites de detecção (LOD) e de quantificação (LOQ), coeficientes de determinação ( $R^2$ ), faixa linear de trabalho, precisão e fator de enriquecimento (EF) foram determinados sob condições otimizadas do método. LOQ foi considerado como sendo o primeiro ponto da faixa linear com valores aceitáveis de precisão ( $RSD \leq 20\%$ ) e LOD foi calculado dividindo o LOQ por 3,3. Os EF foram calculados a partir de uma concentração inicial de  $500 \mu\text{g L}^{-1}$  e determinados como a razão entre as áreas dos picos após a extração e na amostra, conforme indica a Equação 4. Desvio padrão relativo (RSD) foi utilizado para avaliar as precisões do método. A precisão intradia ( $n = 3$ ) foi avaliada em três níveis de concentração (LOQ, 150 e  $500 \mu\text{g L}^{-1}$ ) para cada analito e a precisão interdia (avaliada em  $150 \mu\text{g L}^{-1}$ ) foi realizada em três dias consecutivos ( $n = 9$ ). A exatidão do método foi avaliada mediante ensaios de recuperação relativa dos analitos avaliando as respostas

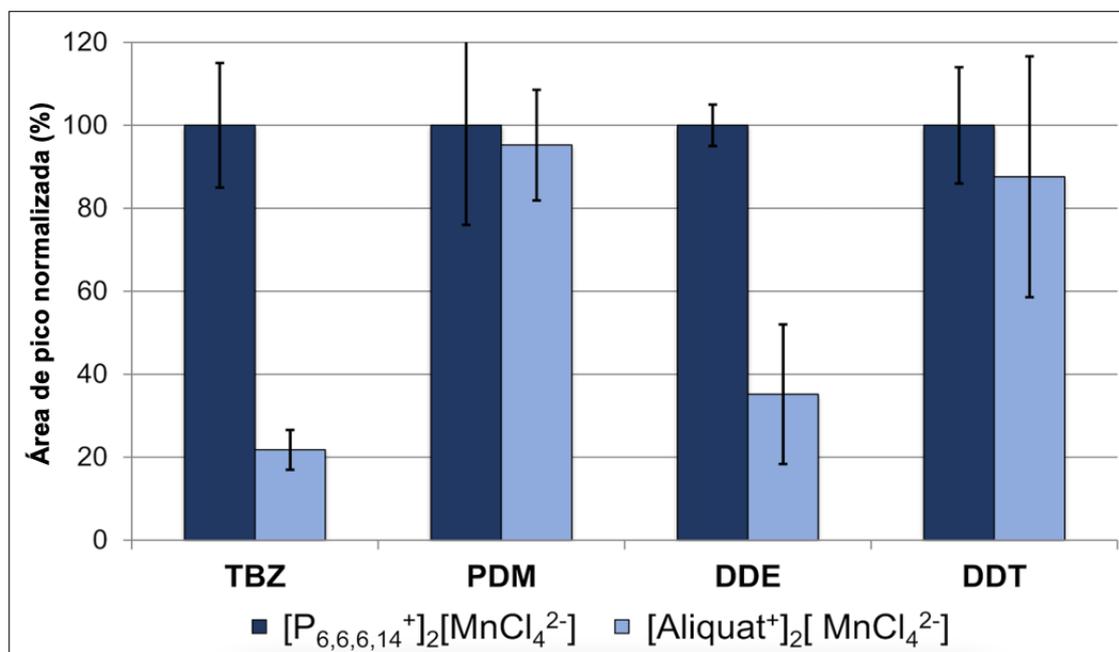
cromatográficas para três extrações realizadas em duas amostras de urina, denominadas A e B, previamente fortificadas com concentrações correspondentes ao LOQ, 150 e 500  $\mu\text{g L}^{-1}$  para cada analito. As amostras de urina foram doadas por dois voluntários na pesquisa, coletadas em frascos de vidro, devidamente seladas e armazenadas a 4°C até a análise. Antes da etapa de extração, a urina foi mantida em temperatura ambiente (22 °C) por 30 min. Esse estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade Federal de Santa Catarina com o número 00913718.3.0000.0121.

### 5.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 5.3.1. Escolha do solvente extrator

A seleção do solvente de extração é uma tarefa importante para garantir eficiências de extração satisfatórias e resultados reprodutíveis. As propriedades físico-químicas do solvente de extração afetam significativamente a performance do método, fatores como  $\log K_{ow}$ , volatilidade e viscosidade são muito importantes, uma vez que a extração é altamente dependente de interações efetivas entre solvente e analitos (JEANNOT; PRZYJAZNY; KOKOSA, 2010). Dessa forma, o primeiro parâmetro otimizado nessa metodologia foi o tipo de solvente extrator, onde a eficiência de extração dos MILs  $[\text{P}_{6,6,6,14}^+]_2[\text{MnCl}_4^{2-}]$  e  $[\text{Aliquat}^+]_2[\text{MnCl}_4^{2-}]$  foi avaliada em uma otimização univariada. Na Figura 21 é possível observar o gráfico de barras gerado a partir dessa otimização, onde as médias aritméticas normalizadas das áreas de cada analito foram utilizadas como resposta.

**Figura 21** – Comparação da eficiência de extração dos MILs  $[P_{6,6,6,14}^+][MnCl_4^{2-}]$  e  $[Aliquat^+][MnCl_4^{2-}]$ .



Fonte: Autoria própria (2020).

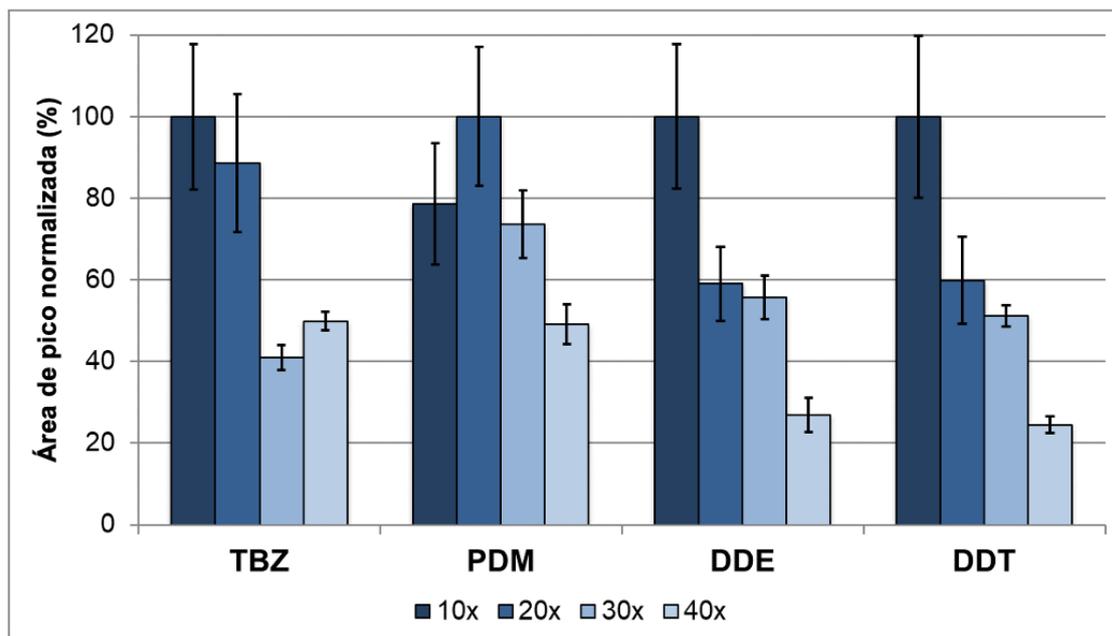
De acordo com a Figura 21,  $[P_{6,6,6,14}^+][MnCl_4^{2-}]$  exibiu melhores eficiências de extração para todos os analitos, especialmente para TBZ e DDE, onde se observou um aumento de aproximadamente 70 % na resposta analítica em comparação com o MIL  $[Aliquat^+][MnCl_4^{2-}]$ . Considerando as estruturas dos cátions  $[P_{6,6,6,14}^+]$  e  $[Aliquat^+]$ , um caráter mais hidrofóbico é esperado ao utilizar os MIL de fosfônio devido à extensão de sua cadeia alquílica substituinte, o que poderia justificar a melhor eficiência de extração obtida quando o MIL de fosfônio foi utilizado. Sendo assim,  $[P_{6,6,6,14}^+][MnCl_4^{2-}]$  foi selecionado como solvente extrator para os experimentos futuros.

### 5.3.2. Avaliação da diluição da urina

A urina é uma matriz muito interessante para avaliar a exposição recente a agrotóxicos, uma vez que é uma matriz relativamente abundante e exibe uma coleta não invasiva. Geralmente, em bioanálises é necessária uma etapa de pré-tratamento da urina a fim de reduzir os efeitos de matriz e a variabilidade dos resultados. Especificamente relacionado à urina, em geral, uma simples diluição com água ou ácido fórmico é suficiente para assegurar resultados confiáveis (ABDEL-REHIM *et al.*, 2020). Nesta etapa de otimização, a urina diluída em 1:10, 1:20, 1:30 e 1:40 foi avaliada, em triplicata, e os resultados estão mostrados na Figura 22. A urina não diluída não foi avaliada devido

ao alto sinal de fundo dos constituintes da matriz que, somados ao sinal do MIL, poderia interferir significativamente nas medidas de cromatográficas dos analitos.

**Figura 22** – Otimização univariada da diluição da urina para o método Pa-SDME/MIL.



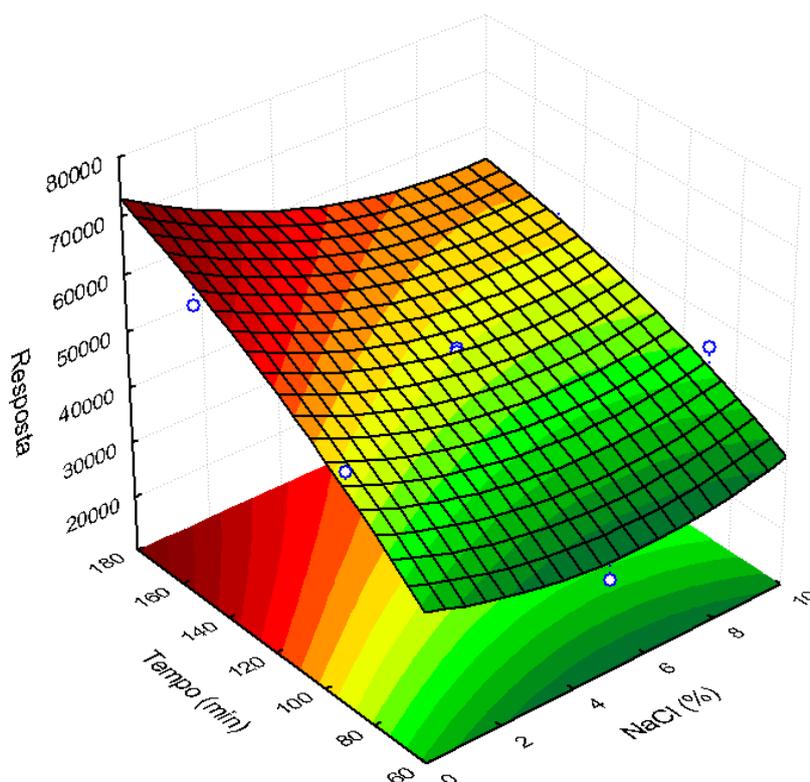
Fonte: Autoria própria (2020).

De acordo com a Figura 22, a diluição de 10 vezes (1:10) proporcionou as maiores eficiências de extração para TBZ, DDT e DDE. Em relação a PDM, diluições de 10, 20 e 30 vezes obtiveram resultados estatisticamente iguais. Desta forma, foi escolhida diluição de 10 vezes para os experimentos subsequentes.

### 5.3.3. Otimização multivariada de tempo de extração e adição de sal

Neste estudo, o efeito combinado da adição de sal e do tempo de extração foi avaliado por meio de um planejamento Doehlert. A superfície de resposta obtida como uma condição compromisso das respostas dos analitos, cujo modelo estatístico apresentou  $R^2 = 0,8877$ , foi construída a partir da média geométrica das áreas de cada analito e está representada na Figura 23.

**Figura 23** – Superfície de resposta obtida pelo planejamento Doehlert para otimização do tempo de extração e adição de sal ( $R^2 = 0,8877$ ).



Fonte: Autoria própria (2020).

**Tabela 16** - ANOVA referente ao planejamento Doehlert para otimização tempo de extração e adição de sal.

	SS	df	MS	F	p
Sal (L)	12562684	1	12562684	3,56765	0,155335
Sal (Q)	58535710	1	58535710	1,66452	0,287443
<b>Tempo (L)</b>	<b>610716279</b>	<b>1</b>	<b>610716279</b>	<b>17,36628</b>	<b>0,025147</b>
Tempo (Q)	11305379	1	11305379	0,32148	0,610372
Sal <i>Vs</i> Tempo	14532569	1	14532569	0,41325	0,566082
Erro	105500360	3	3516687		
Total SS	939681719	8			

Conforme indicado na Figura 23, tempos de extração mais longos poderiam implicar um aumento na eficiência da extração, sendo que para valores acima de 120 min de extração, a resposta analítica apresentou maiores resultados. As superfícies individuais dos analitos, representadas no ANEXO III, corroboram com a tendência observada na Figura 22. Desta forma, foram selecionados 130 min como condição ótima, uma vez que não foram observadas alterações significativas na eficiência da extração entre 130 e 180

min que justificassem esse incremento de tempo. Por outro lado, conforme os dados contidos na tabela ANOVA (Tabela 16), para um grau de significância de 5 %, a adição de sal não exerceu influência na resposta analítica, uma vez que, para os efeitos de adição de sal, os valores de  $p$  foram todos acima de  $p = 0,05$ . Uma possível explicação se deve ao fato que o efeito *salting-out* é mais evidente em analitos polares e, como os analitos estudados exibem  $\log P$  entre 3,69 e 6,46, um aumento na concentração de sal na amostra não favoreceu a migração dos analitos para o solvente extrator. Além disso, o sal também pode afetar a solubilidade do MIL e a viscosidade da amostra e, conseqüentemente, os coeficientes de difusão dos analitos, levando a baixas taxas de transferência de massa e um invariável aumento no tempo de extração. Dessa forma, os seguintes experimentos foram conduzidos sem adição de sal.

#### **5.3.4. Parâmetros analíticos de mérito e aplicação do método**

Os parâmetros analíticos de mérito do método proposto foram obtidos através de curvas de calibração construídas em cinco níveis de concentração ( $n = 3$ ) diretamente na urina diluída 1:10. Os resultados obtidos estão listados na Tabela 17. Os valores LOD e LOQ foram 7,5 e 25  $\mu\text{g L}^{-1}$ , respectivamente. Os coeficientes de determinação ( $R^2$ ) foram todos superiores a 0,9955 o que mostra boa linearidade entre as áreas de pico cromatográfico e a concentração de analito na urina diluída. Os fatores de enriquecimento (EF) variaram entre 4 e 15. A precisão intradia variou entre 3 e 17 % para TBZ e PDM, respectivamente. A precisão interdia variou entre 15 e 18 % para PDM e DDE, respectivamente.

**Tabela 17-** Parâmetros analíticos de mérito do método Pa-SDME/MIL utilizando o MIL  $[P_{6,6,6,14}^+ ]_2[MnCl_4^{2-}]$  como solvente de extração.

Analito	Equação Linear	R <sup>2</sup>	EF	LOD <sup>a</sup> (µg L <sup>-1</sup> )	LOQ <sup>b</sup> (µg L <sup>-1</sup> )	Faixa Linear de trabalho (µg L <sup>-1</sup> )	Precisão <sup>c</sup> (%)			
							Intradia, n=3			Interdia, n=9
							25 (µg L <sup>-1</sup> )	150 (µg L <sup>-1</sup> )	500 (µg L <sup>-1</sup> )	150 (µg L <sup>-1</sup> )
Tebuconazol	$y = 238,35x + 7656,5$	0,9980	15	7,5	25	25-500	3	16	16	17
Pendimetalina	$y = 209,41x + 997,89$	0,9955	5	7,5	25	25-500	17	8	6	15
DDT	$y = 117,45x + 4167,0$	0,9993	8	7,5	25	25-500	10	3	15	17
DDE	$y = 155,02x + 401,95$	0,9982	4	7,5	25	25-500	11	7	16	18

<sup>a</sup>LOD foi calculado dividindo LOQ/3.3

<sup>b</sup>LOQ foi adotado como o primeiro ponto da faixa linear de trabalho

<sup>c</sup>Precisões intradia e interdia foram calculadas baseadas no RSD.

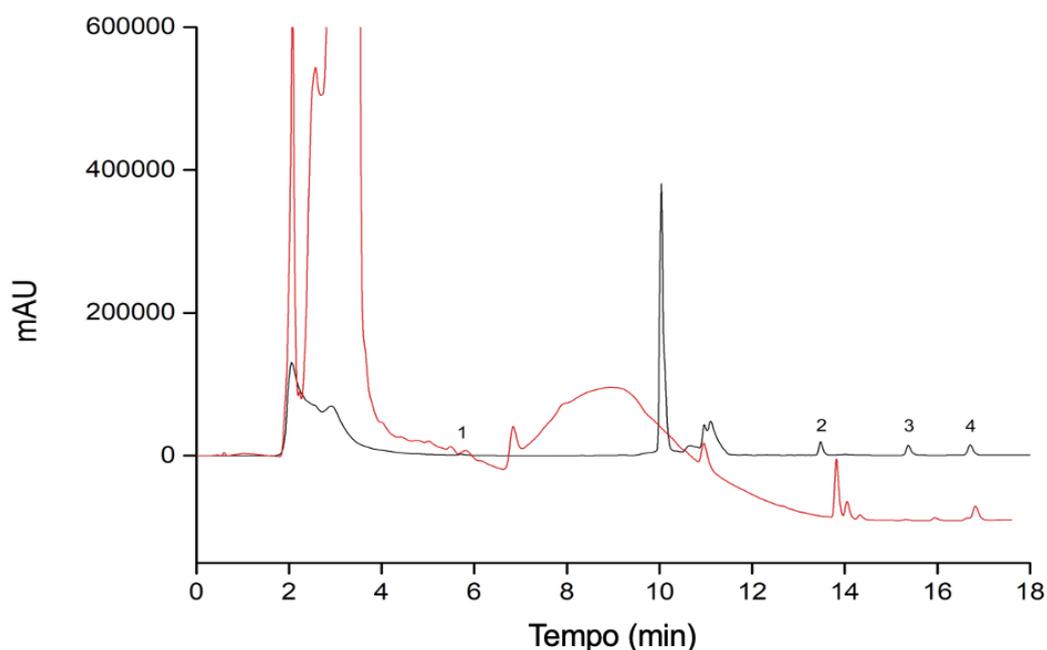
A exatidão do método foi avaliada por meio de ensaios de recuperação relativa em duas amostras de urina diferentes e os valores encontrados com seus respectivos RSD estão apontados na Tabela 18. Os valores variaram de 70 a 122 % para TBZ e DDE, respectivamente. De acordo com Rambla-Alegre *et al.* (2012), a Associação dos Químicos Analíticos Oficiais (AOAC) estabelece alguns limites para a RSD e recuperação de acordo com o nível de concentração estudado e, os resultados alcançados com este método estão todos de acordo com os parâmetros dessa diretriz (AOAC, 2016).

**Tabela 18** - Recuperações relativas e RSD dos analitos para as amostras A e B (n=3)

Analito	Recuperação Relativa (%), n=3					
	Amostra A			Amostra B		
	25 ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	150 ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	500 ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	25 ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	150 ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	500 ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )
Tebuconazol	88 ± 3	104 ± 17	113 ± 14	70 ± 18	115 ± 6	75 ± 9
Pendimetalina	104 ± 13	103 ± 13	107 ± 4	103 ± 4	118 ± 19	108 ± 11
DDT	107 ± 20	115 ± 10	85 ± 19	110 ± 13	103 ± 14	106 ± 13
DDE	100 ± 24	107 ± 8	85 ± 21	122 ± 2	107 ± 12	119 ± 14

Por fim, o método foi aplicado em duas amostras de urina fornecidas por voluntários que participaram da pesquisa. A Figura 24 apresenta os cromatogramas obtidos a partir da amostra A, sem fortificação e da mesma amostra contendo uma concentração de 150  $\mu\text{g L}^{-1}$  de cada analito, onde é possível ver a ordem de eluição dos compostos. Nenhum sinal dos analitos foi detectado dentro do limite de detecção do método.

**Figura 24** – Cromatogramas obtidos por HPLC-DAD a 235 nm para a amostra A (vermelho) e para urina fortificada com 150 ppm de cada analito (preto) utilizando a metodologia proposta. Ordem de eluição: 1- TBZ, 2- PDM, 3- DDD, 4- DDT.



Fonte: Autoria própria (2020).

### 5.3.5. Comparação da metodologia desenvolvida

Os principais parâmetros do método proposto foram comparados com outros reportados na literatura, conforme indica a Tabela 19. Particularmente, esse método possibilita um significativo aumento da frequência analítica, uma vez que ao final dos 130 min requeridos para a extração se completar, até 96 extratos de MIL enriquecidos com os analitos podem ser obtidos, totalizando uma razão de 1,35 min por amostra. Além disso, os LODs foram semelhantes aos encontrados em alguns estudos que utilizaram sistemas de detecção mais sensíveis baseados em espectrometria de massa. Outra marcante característica do método é seu baixo consumo de solvente orgânico, uma vez que apenas alguns microlitros são requeridos, enquanto os demais utilizam volumes significativamente maiores de solventes consideravelmente tóxicos, entre 1 e 12 mililitros. Essas estratégias de miniaturização e semi-automatização adotadas, aliadas com o uso de um solvente extrator mais ambientalmente amigável, promoveu melhorias tanto nas características da metodologia quanto aumentou a segurança do analista,

princípios preconizados pela Química Analítica Verde (GAŁUSZKA; MIGASZEWSKI; NAMIEŚNIK, 2013).

**Tabela 19** – Comparação do método desenvolvido com outros reportados na literatura.

Analito	Técnica de extração	Instrumentação	Amostra	LOD	Qtd. de amostra	Volume de solvente	Tempo de preparo de amostra	Referência
TBZ	-	TFLC–LC–MS/MS	Urina	0,5 µg L <sup>-1</sup>	1 mL	-	-	(MERCADANTE, R <i>et al.</i> , 2014)
TBZ, PDM, DDE e DDT	SPME	GC-MS/MS	Cabelo	0, 2, 1, 0,1 e 1 pg mg <sup>-1</sup>	50 mg	1 mL ACN	13.5 h*	(SCHUMMER <i>et al.</i> , 2012)
TBZ	-	LC-MS/MS	Cabelo	1 pg mg <sup>-1</sup> (LOQ)	50 mg	2 mL ACN	>3 h	(MERCADANTE, Rosa <i>et al.</i> , 2018)
TBZ	VALLME <sup>1</sup>	GC-MS	Urina	10 µg L <sup>-1</sup>	1 mL	1 mL ACN e 200 µL tolueno	>12 h	(MACHADO <i>et al.</i> , 2019)
TBZ, PDM, DDE e DDT	GLME-MA-d-SPE <sup>2</sup>	GC-MS	Peixe, carne e ovo	0,55 – 4,12 ng g <sup>-1</sup>	0,75 g	1,5 mL de ACN	>15 min	(KAW <i>et al.</i> , 2021)
PDM e TBZ	SPE	GC-IT-MS/MS e UHPLC-QqQ-MS/MS	Urina	0,006 e 0,010 µg L <sup>-1</sup>	5 mL	9 mL CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> , 5 mL água	-	(CAZORLA-REYES <i>et al.</i> , 2011)
PDM	QuEChERS	GC-ECD/NPD	Mostarda branca	0,022 mg kg <sup>-1</sup> <sup>b</sup>	5 g	10 mL ACN + 2 mL éter de petróleo	>13 min	(SŁOWIK-BOROWIEC; SZPYRKA; WALORCZYK, 2015)
DDT e DDE	MAE-MSPE <sup>3</sup>	GC-ECD	Solo	0,15 – 0,18 ng g <sup>-1</sup>	2 g	8 mL ACN + 800 µL acetona + 100 µL n-hexano	>27 min	(HE <i>et al.</i> , 2019)
TBZ, PDM, DDE e DDT	Pa-SDME	HPLC-DAD	Urina	7,5 µg L <sup>-1</sup>	150 µL	10 µL MIL + 20 µL ACN	130/1,35 min	Este trabalho

<sup>a</sup> 1.9 pmol mL<sup>-1</sup> <sup>b</sup> Faixa linear instrumental inferior \*12 horas de pré-tratamento + 90 min de extração com SPME.

<sup>1</sup> Microextração líquido-líquido assistida por vortex. <sup>2</sup> microextração gás-líquido acoplada com extração magnética de fase sólida dispersiva,

<sup>3</sup>Extração assistida por microondas acoplada com microextração em fase sólida.

#### 5.4. CONCLUSÕES PARCIAIS

Uma metodologia simples baseada em Pa-SDME/MIL, juntamente com o HPLC-DAD para o monitoramento de quatro agrotóxicos (TBZ, PDM, DDT e DDE) em amostras de urina foi desenvolvida. Esse trabalho demonstra que o dispositivo desenvolvido para extrações paralelas utilizando MIL possui potencial para ser explorado em matrizes biológicas de alta complexidade. Esta metodologia proporcionou um aprimoramento considerável da abordagem de SDME convencional, particularmente no que diz respeito à frequência analítica do método e estabilidade da gota. O método obteve um desempenho analítico satisfatório em relação à precisão e exatidão, alcançando LODs no nível de *ppb*, utilizando o sistema de detecção DAD. Ainda são necessários estudos aprofundados com foco em um sistema totalmente automatizado, o que pode melhorar o fluxo de trabalho das novas técnicas de extração/microextração.

## CAPÍTULO VI – CONCLUSÃO FINAL E PERSPECTIVAS

Este estudo relata um sistema de extração paralela e simultânea combinando líquidos iônicos magnéticos e microextração em gota única. A nova proposta denominada microextração em gota única paralela (Pa-SDME) alia as propriedades magnéticas, estabilidade da gota e capacidade de extração do MIL tetracloromanganato de triexil(tetradecil)fosfonio (II) ( $[P_{6,6,6,14}^+]_2[MnCl_4^{2-}]$ ) quando acoplado ao sistema de *96-well plate* e promove a extração de até 96 amostras simultaneamente. A partir desse conceito, dois estudos foram desenvolvidos utilizando a técnica proposta, o sistema de *96-well plate* adaptado para promover extrações magnetizadas e análises por HPLC-DAD.

Na primeira abordagem, os compostos desreguladores endócrinos metilparabeno, etilparabeno, propilparabeno, butilparabeno, bisfenol A, benzofenona e triclocarban foram extraídos/determinados com sucesso em amostras aquosas ambientais. Em seguida, o potencial do sistema de extração Pa-SDME foi eficientemente aplicado na determinação dos agrotóxicos tebuconazol, pendimetalina, DDE e DDT em amostras de urina humana. As metodologias foram totalmente otimizadas e apresentaram desempenho analítico bastante satisfatórios, demonstrando várias vantagens em relação a outros métodos descritos na literatura, como necessidade de pequena quantidade de amostra, fluxo simples de trabalho, fácil adequação para automatização completa e alta frequência analítica.

Os resultados demonstraram que os MILs são uma ferramenta atrativa e que podem ser explorados como solventes extratores para inúmeras técnicas de preparo de amostra. A configuração Pa-SDME fornece um aprimoramento considerável da SDME convencional, particularmente na frequência analítica, em comparação com estudos relatados anteriormente onde os MILs foram aplicados como solvente de extração. Além disso, o MIL apresentou boa estabilidade em comparação com outros solventes típicos empregados para aplicações de SDME convencionais.

Em resumo, as vantagens da técnica Pa-SDME/MIL proposta e aplicada em duas metodologias distintas consistem em pequena quantidade de amostra, o que é de particular interesse para investigações forenses; facilidade de operação; aspectos ambientalmente amigáveis, tanto na substituição de solventes tóxicos por MIL quanto no baixo volume de solvente orgânico utilizado; alto rendimento no preparo de amostra e

elevada frequência analítica, uma vez que, terminado o tempo de extração, até 96 amostras estarão prontas para serem analisadas no equipamento analítico. A principal limitação desta abordagem Pa-SDME é a necessidade de fases extratoras magnéticas, como os MILs.

Em um futuro próximo, essa nova abordagem Pa-SDME pode ser adaptada a um sistema amostrador completamente automatizado, que pode reduzir os erros humanos e aumentar significativamente a precisão e exatidão da técnica. Além disso, novas gerações de líquidos iônicos magnéticos podem ser utilizadas como solventes extratores para o sistema Pa-SDME, incluindo a formação *in-situ* desses solventes, reduzindo ainda mais o impacto ambiental das técnicas de microextração.

## REFERÊNCIAS

(EFSA), E. F. S. A. Peer review of the pesticide risk assessment of the active substance pendimethalin. **EFSA Journal**, [s. l.], v. 14, n. 3, p. 4420, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2016.4420>

ABD EL-HADY, D.; ALBISHRI, H. M. Simultaneous determination of acrylamide, asparagine and glucose in food using short chain methyl imidazolium ionic liquid based ultrasonic assisted extraction coupled with analyte focusing by ionic liquid micelle collapse capillary electrophoresis. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 188, p. 551–558, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.05.047>

ABDEL-REHIM, M. *et al.* Microextraction approaches for bioanalytical applications: An overview. **Journal of Chromatography A**, [s. l.], v. 1616, p. 460790, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2019.460790>

ABDELAZIZ, M. A.; MANSOUR, F. R.; DANIELSON, N. D. A gadolinium-based magnetic ionic liquid for dispersive liquid–liquid microextraction. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, [s. l.], v. 413, n. 1, p. 205–214, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00216-020-02992-z>

ABUJABER, F. *et al.* Ionic liquid dispersive liquid-liquid microextraction combined with LC-UV-Vis for the fast and simultaneous determination of cortisone and cortisol in human saliva samples. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, [s. l.], v. 165, p. 141–146, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2018.12.001>

AGUIRRE, M. Á. *et al.* Determination of cadmium in used engine oil, gasoline and diesel by electrothermal atomic absorption spectrometry using magnetic ionic liquid-based dispersive liquid-liquid microextraction. **Talanta**, [s. l.], v. 220, p. 121395, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2020.121395>

AKER, A. M. *et al.* Phenols and parabens in relation to reproductive and thyroid hormones in pregnant women. **Environmental Research**, [s. l.], v. 151, p. 30–37, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.envres.2016.07.002>

ALBO, J. *et al.* Separation performance of CO<sub>2</sub> through Supported Magnetic Ionic Liquid Membranes (SMILMs). **Separation and Purification Technology**, [s. l.], v. 97, p. 26–33, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2012.01.034>

ALEXOVIČ, M. *et al.* Achievements in robotic automation of solvent extraction and related approaches for bioanalysis of pharmaceuticals. **Journal of Chromatography B**, [s. l.], v. 1092, p. 402–421, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2018.06.037>

AMJADI, M.; MANZOORI, J. L.; ABULHASSANI, J. Ionic Liquid-Based, Single-Drop Microextraction for Preconcentration of Cobalt Before Its Determination by Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry. **Journal of AOAC INTERNATIONAL**, [s. l.], v. 93, n. 3, p. 985–991, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/jaoac/93.3.985>

AN, J. *et al.* Non-conventional solvents in liquid phase microextraction and aqueous biphasic systems. **Journal of Chromatography A**, [s. l.], v. 1500, p. 1–23, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2017.04.012>

AN, J.; RAHN, K. L.; ANDERSON, J. L. Headspace single drop microextraction versus dispersive liquid-liquid microextraction using magnetic ionic liquid extraction solvents. **Talanta**, [s. l.], v. 167, p. 268–278, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2017.01.079>

ANDERSON, J. L.; ARMSTRONG, D. W. High-Stability Ionic Liquids. A New Class of Stationary Phases for Gas Chromatography. **Analytical Chemistry**, [s. l.], v. 75, n. 18, p. 4851–4858, 2003. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/ac0345749>

AOAC. **Official Methods of Analysis - Guidelines for Standard Method Performance Requirements**. [S. l.: s. n.], 2016.

ARMSTRONG, D. W. *et al.* Ionic Liquids as Matrixes for Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Mass Spectrometry. **Analytical Chemistry**, [s. l.], v. 73, n. 15, p. 3679–3686, 2001. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/ac010259f>

ARTHUR, C. L.; PAWLISZYN, J. Solid phase microextraction with thermal desorption using fused silica optical fibers. **Analytical Chemistry**, [s. l.], v. 62, n. 19, p. 2145–2148, 1990. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/ac00218a019>

ASK, K. S. *et al.* Dried blood spots and parallel artificial liquid membrane extraction—A simple combination of microsampling and microextraction. **Analytica Chimica Acta**, [s. l.], v. 1009, p. 56–64, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.aca.2018.01.024>

BEIRAGHI, A. *et al.* Magnetomotive room temperature dicationic ionic liquid: A new concept toward centrifuge-less dispersive liquid–liquid microextraction. **Journal of Chromatography A**, [s. l.], v. 1376, p. 1–8, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2014.12.004>

BENEDÉ, J. L.; ANDERSON, J. L.; CHISVERT, A. Trace determination of volatile polycyclic aromatic hydrocarbons in natural waters by magnetic ionic liquid-based stir bar dispersive liquid microextraction. **Talanta**, [s. l.], v. 176, p. 253–261, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2017.07.091>

BOWERS, A. N. *et al.* Extraction of DNA with magnetic ionic liquids using in situ dispersive liquid–liquid microextraction. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, [s. l.], v. 411, n. 28, p. 7375–7385, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00216-019-02163-9>

BOYACI, E. *et al.* Introduction of solid-phase microextraction as a high-throughput sample preparation tool in laboratory analysis of prohibited substances. **Analytica Chimica Acta**, [s. l.], v. 809, p. 69–81, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.aca.2013.11.056>

BOYACI, E. *et al.* Sample preparation with solid phase microextraction and exhaustive extraction approaches: Comparison for challenging cases. **Analytica Chimica Acta**, [s.

l.], v. 873, p. 14–30, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.aca.2014.12.051>

BRANCO, A.; BRANCO, L.; PIÑA, F. Electrochromic and magnetic ionic liquids. **Chemical communications**, [s. l.], v. 47 8, p. 2300–2302, 2011.

CABALEIRO, N. *et al.* Coumarins as turn on/off fluorescent probes for detection of residual acetone in cosmetics following headspace single-drop microextraction. **Talanta**, [s. l.], v. 129, p. 113–118, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2014.05.033>

CAO, D. *et al.* Designed multifunctional visual observation of magnetic ionic liquid coupling with microwave-assisted derivatization for determination of biogenic amines. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 333, p. 127518, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127518>

CARASEK, E. *et al.* Sustainable green solvents for microextraction techniques: Recent developments and applications. **Journal of Chromatography A**, [s. l.], v. 1640, p. 461944, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2021.461944>

CARASEK, E.; MERIB, J. Membrane-based microextraction techniques in analytical chemistry: A review. **Analytica Chimica Acta**, [s. l.], v. 880, p. 8–25, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.aca.2015.02.049>

CARASEK, E.; MORÉS, L.; MERIB, J. Basic principles, recent trends and future directions of microextraction techniques for the analysis of aqueous environmental samples. **Trends in Environmental Analytical Chemistry**, [s. l.], v. 19, p. e00060, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.teac.2018.e00060>

CAZORLA-REYES, R. *et al.* Single solid phase extraction method for the simultaneous analysis of polar and non-polar pesticides in urine samples by gas chromatography and ultra high pressure liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry. **Talanta**, [s. l.], v. 85, n. 1, p. 183–196, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2011.03.048>

CHATZIMITAKOS, T. *et al.* Magnetic ionic liquid in stirring-assisted drop-breakup microextraction: Proof-of-concept extraction of phenolic endocrine disrupters and acidic pharmaceuticals. **Analytica Chimica Acta**, [s. l.], v. 910, p. 53–59, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.aca.2016.01.015>

CHATZIMITAKOS, T. G. *et al.* Enhanced magnetic ionic liquid-based dispersive liquid-liquid microextraction of triazines and sulfonamides through a one-pot, pH-modulated approach. **Journal of Chromatography A**, [s. l.], v. 1571, p. 47–54, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2018.08.013>

CHISVERT, A. *et al.* Introducing a new and rapid microextraction approach based on magnetic ionic liquids: Stir bar dispersive liquid microextraction. **Analytica Chimica Acta**, [s. l.], v. 983, p. 130–140, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.aca.2017.06.024>

CLARK, K. D. *et al.* Extraction of DNA by Magnetic Ionic Liquids: Tunable Solvents

for Rapid and Selective DNA Analysis. **Analytical Chemistry**, [s. l.], v. 87, n. 3, p. 1552–1559, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/ac504260t>

CLARK, K. D. *et al.* Magnetic ionic liquids in analytical chemistry: A review. **Analytica Chimica Acta**, [s. l.], v. 934, p. 9–21, 2016a. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.aca.2016.06.011>

CLARK, K. D. *et al.* Preservation of DNA in nuclease-rich samples using magnetic ionic liquids. **RSC Advances**, [s. l.], v. 6, n. 46, p. 39846–39851, 2016b. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/C6RA05932E>

CLARK, K. D.; VARONA, M.; ANDERSON, J. L. Ion-Tagged Oligonucleotides Coupled with a Magnetic Liquid Support for the Sequence-Specific Capture of DNA. **Angewandte Chemie International Edition**, [s. l.], v. 56, n. 26, p. 7630–7633, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/anie.201703299>

CLARK, K. D.; ZHU, C.; ANDERSON, J. L. Maximizing Ion-Tagged Oligonucleotide Loading on Magnetic Ionic Liquid Supports for the Sequence-Specific Extraction of Nucleic Acids. **Analytical Chemistry**, [s. l.], v. 91, n. 9, p. 5945–5952, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.9b00350>

D'AMATO, C.; TORRES, J. P. M.; MALM, O. **DDT (dicloro difenil tricloroetano): toxicidade e contaminação ambiental - uma revisão**. [S. l.]: scielo, 2002.

DA SILVA, A. C. *et al.* Magnetic ionic liquids as an efficient tool for the multiresidue screening of organic contaminants in river water samples. **SEPARATION SCIENCE PLUS**, [s. l.], v. 2, n. 2, p. 51–58, 2019. Disponível em: <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/sscp.201900010>

DANESHVAR, A.; MOOSAVI, M.; SABZIAN, H. A molecular dynamics study on magnetic imidazolium-based ionic liquids: the effect of an external magnetic field. **Physical Chemistry Chemical Physics**, [s. l.], v. 22, n. 23, p. 13070–13083, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/C9CP06994A>

DANIEL, C I *et al.* A group contribution method for the influence of the temperature in the viscosity of magnetic ionic liquids. **Fluid Phase Equilibria**, [s. l.], v. 360, p. 29–35, 2013. Disponível em: <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.fluid.2013.08.031>

DANIEL, Carla I *et al.* Magnetic modulation of the transport of organophilic solutes through Supported Magnetic Ionic Liquid Membranes. **Journal of Membrane Science**, [s. l.], v. 505, p. 36–43, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2015.11.025>

DE BOECK, M. *et al.* Fast and easy extraction of antidepressants from whole blood using ionic liquids as extraction solvent. **Talanta**, [s. l.], v. 180, p. 292–299, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2017.12.044>

DENG, N. *et al.* Highly efficient extraction of phenolic compounds by use of magnetic room temperature ionic liquids for environmental remediation. **Journal of Hazardous Materials**, [s. l.], v. 192, n. 3, p. 1350–1357, 2011. Disponível em:

[file://https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2011.06.053](https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2011.06.053)

DING, X. *et al.* Magnetic ionic liquid-enhanced isothermal nucleic acid amplification and its application to rapid visual DNA analysis. **Analytica Chimica Acta**, [s. l.], v. 1045, p. 132–140, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.aca.2018.09.014>

DÖBBELIN, M. *et al.* Synthesis of paramagnetic polymers using ionic liquid chemistry. **Polymer Chemistry**, [s. l.], v. 2, n. 6, p. 1275–1278, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/C1PY00044F>

EIBAK, L. E. E. *et al.* Parallel electromembrane extraction in the 96-well format. **Analytica Chimica Acta**, [s. l.], v. 828, p. 46–52, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.aca.2014.04.038>

EMAUS, M. N.; ANDERSON, J. L. Allelic discrimination between circulating tumor DNA fragments enabled by a multiplex-qPCR assay containing DNA-enriched magnetic ionic liquids. **Analytica Chimica Acta**, [s. l.], v. 1124, p. 184–193, 2020a. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.aca.2020.04.078>

EMAUS, M. N.; ANDERSON, J. L. Simultaneous cell lysis and DNA extraction from whole blood using magnetic ionic liquids. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, [s. l.], v. 412, n. 29, p. 8039–8049, 2020b. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00216-020-02941-w>

EMAUS, M. N.; VARONA, M.; ANDERSON, J. L. Sequence-specific preconcentration of a mutation prone KRAS fragment from plasma using ion-tagged oligonucleotides coupled to qPCR compatible magnetic ionic liquid solvents. **Analytica Chimica Acta**, [s. l.], v. 1068, p. 1–10, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.aca.2019.04.005>

FANG, C. *et al.* Optimization of headspace single-drop microextraction technique for extraction of light hydrocarbons (C6–C12) and its potential applications. **Organic Geochemistry**, [s. l.], v. 42, n. 4, p. 316–322, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.orggeochem.2011.01.009>

FENG, X. *et al.* Novel functionalized magnetic ionic liquid green separation technology coupled with high performance liquid chromatography: A rapid approach for determination of estrogens in milk and cosmetics. **Talanta**, [s. l.], v. 209, p. 120542, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.120542>

FERNÁNDEZ, E.; VIDAL, L.; CANALS, A. Hydrophilic magnetic ionic liquid for magnetic headspace single-drop microextraction of chlorobenzenes prior to thermal desorption-gas chromatography-mass spectrometry. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, [s. l.], v. 410, n. 19, p. 4679–4687, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00216-017-0755-2>

FERNÁNDEZ, S. F. *et al.* Biomonitoring of non-persistent pesticides in urine from lactating mothers: Exposure and risk assessment. **Science of The Total Environment**, [s. l.], v. 699, p. 134385, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134385>

FIorentini, E. F.; Canizo, B. V.; Willoud, R. G. Determination of As in honey samples by magnetic ionic liquid-based dispersive liquid-liquid microextraction and electrothermal atomic absorption spectrometry. **Talanta**, [s. l.], v. 198, p. 146–153, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.01.091>

FIorentini, E. F.; Escudero, L. B.; Willoud, R. G. Magnetic ionic liquid-based dispersive liquid-liquid microextraction technique for preconcentration and ultra-trace determination of Cd in honey. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, [s. l.], v. 410, n. 19, p. 4715–4723, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00216-018-1050-6>

FIorentini, E. F.; Oviedo, M. N.; Willoud, R. G. Ultra-trace Cr preconcentration in honey samples by magnetic ionic liquid dispersive liquid-liquid microextraction and electrothermal atomic absorption spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, [s. l.], v. 169, p. 105879, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.sab.2020.105879>

Fontana, A. R. *et al.* Solid-phase extraction followed by liquid chromatography quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry for the selective determination of fungicides in wine samples. **Journal of Chromatography A**, [s. l.], v. 1218, n. 16, p. 2165–2175, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2011.02.025>

Gałuszka, A.; Migaszeński, Z.; Namieśnik, J. The 12 principles of green analytical chemistry and the SIGNIFICANCE mnemonic of green analytical practices. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, [s. l.], v. 50, p. 78–84, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.trac.2013.04.010>

Giulivo, M. *et al.* Human exposure to endocrine disrupting compounds: Their role in reproductive systems, metabolic syndrome and breast cancer. A review. **Environmental Research**, [s. l.], v. 151, p. 251–264, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.envres.2016.07.011>

Gjelstad, A. *et al.* Parallel artificial liquid membrane extraction: micro-scale liquid-liquid-liquid extraction in the 96-well format. **Bioanalysis**, [s. l.], v. 5, n. 11, p. 1377–1385, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.4155/bio.13.59>

Guo, X. *et al.* Ionic liquid-based single-drop liquid-phase microextraction combined with high-performance liquid chromatography for the determination of sulfonamides in environmental water. **Journal of Separation Science**, [s. l.], v. 35, n. 3, p. 452–458, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/jssc.201100777>

Hantao, L. W.; Toledo, B. R.; Augusto, F. Fases Estacionárias de Líquidos Iônicos em Cromatografia Gasosa: Fundamentos, Avanços Recentes e Perspectivas. **Química Nova**, [s. l.], v. 39, p. 81–93, 2016.

Harada, T. *et al.* Toxicity and Carcinogenicity of Dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT). **Toxicological Research**, [s. l.], v. 32, n. 1, p. 21–33, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.5487/TR.2016.32.1.021>

HASHEMI, B. *et al.* Recent advances in liquid-phase microextraction techniques for the analysis of environmental pollutants. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, [s. l.], v. 97, p. 83–95, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.trac.2017.08.014>

HAYASHI, S.; HAMAGUCHI, H. Discovery of a Magnetic Ionic Liquid [bmim]FeCl<sub>4</sub>. **Chemistry Letters**, [s. l.], v. 33, n. 12, p. 1590–1591, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1246/cl.2004.1590>

HE, X. *et al.* Microwave assisted magnetic solid phase extraction using a novel amino-functionalized magnetic framework composite of type Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-NH<sub>2</sub>@MIL-101(Cr) for the determination of organochlorine pesticides in soil samples. **Talanta**, [s. l.], v. 196, p. 572–578, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2018.12.019>

HICE, S. A. *et al.* Capture, Concentration, and Detection of Salmonella in Foods Using Magnetic Ionic Liquids and Recombinase Polymerase Amplification. **Analytical Chemistry**, [s. l.], v. 91, n. 1, p. 1113–1120, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.8b04751>

HU, H. *et al.* Sensitive determination of trace urinary 3-hydroxybenzo[a]pyrene using ionic liquids-based dispersive liquid–liquid microextraction followed by chemical derivatization and high performance liquid chromatography–high resolution tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography B**, [s. l.], v. 1027, p. 200–206, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2016.05.041>

HUTCHINSON, J. P.; SETKOVA, L.; PAWLISZYN, J. Automation of solid-phase microextraction on a 96-well plate format. **Journal of Chromatography A**, [s. l.], v. 1149, n. 2, p. 127–137, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2007.02.117>

JAIN, A.; VERMA, K. K. Recent advances in applications of single-drop microextraction: A review. **Analytica Chimica Acta**, [s. l.], v. 706, n. 1, p. 37–65, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.aca.2011.08.022>

JEANNOT, M. A.; CANTWELL, F. F. Mass Transfer Characteristics of Solvent Extraction into a Single Drop at the Tip of a Syringe Needle. **Analytical Chemistry**, [s. l.], v. 69, n. 2, p. 235–239, 1997. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/ac960814r>

JEANNOT, M. A.; PRZYJAZNY, A.; KOKOSA, J. M. Single drop microextraction—Development, applications and future trends. **Journal of Chromatography A**, [s. l.], v. 1217, n. 16, p. 2326–2336, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2009.10.089>

JOSEPH, A. *et al.* Paramagnetic ionic liquids for advanced applications: A review. **Journal of Molecular Liquids**, [s. l.], v. 218, p. 319–331, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2016.02.086>

KAW, H. Y. *et al.* Gas-liquid microextraction coupled with magnetic-assisted dispersive solid-phase extraction clean-up for multi-residue pesticide analysis in fatty foods of animal origin. **LWT**, [s. l.], v. 137, p. 110448, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110448>

KAYE, B. *et al.* Rapid, Solid Phase Extraction Technique for the High-Throughput Assay of Darifenacin in Human Plasma. **Analytical Chemistry**, [s. l.], v. 68, n. 9, p. 1658–1660, 1996. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/ac9507552>

KE, Y. *et al.* Comparison of fully-automated headspace single drop microextraction and headspace solid phase microextraction techniques for rapid analysis of No. 6 solvent residues in edible oil. **Microchemical Journal**, [s. l.], v. 117, p. 187–193, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.microc.2014.07.004>

KHAZALPOUR, S. *et al.* Applications of phosphonium-based ionic liquids in chemical processes. **Journal of the Iranian Chemical Society**, [s. l.], v. 17, n. 8, p. 1775–1917, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s13738-020-01901-6>

KIRCHMANN, H.; PETTERSSON, S. Human urine - Chemical composition and fertilizer use efficiency. **Fertilizer research**, [s. l.], v. 40, n. 2, p. 149–154, 1994. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/BF00750100>

KIRSCHNER, N. *et al.* Novel approach to high-throughput determination of endocrine disruptors using recycled diatomaceous earth as a green sorbent phase for thin-film solid-phase microextraction combined with 96-well plate system. **Analytica Chimica Acta**, [s. l.], v. 996, p. 29–37, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.aca.2017.09.047>

KOCÚROVÁ, L.; BALOGH, I. S.; ANDRUCH, V. Solvent microextraction: A review of recent efforts at automation. **Microchemical Journal**, [s. l.], v. 110, p. 599–607, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.microc.2013.07.009>

KOKOSA, J. M. Advances in solvent-microextraction techniques. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, [s. l.], v. 43, p. 2–13, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.trac.2012.09.020>

KOKOSA, J. M. Chapter Thirteen - Selecting an Appropriate Solvent Microextraction Mode for a Green Analytical Method. *In*: IBÁÑEZ, E.; CIFUENTES, A. B. T.-C. A. C. (org.). **Green Extraction Techniques**. [S. l.]: Elsevier, 2017. v. 76, p. 403–425. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/bs.coac.2016.12.001>

KOKOSA, J. M. Selecting an extraction solvent for a greener liquid phase microextraction (LPME) mode-based analytical method. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, [s. l.], v. 118, p. 238–247, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.05.012>

KUMAR, A.; LI, K.; CAI, C. Anaerobic conditions to reduce oxidation of proteins and to accelerate the copper-catalyzed “Click” reaction with a water-soluble bis(triazole) ligand. **Chem. Commun.**, [s. l.], v. 47, n. 11, p. 3186–3188, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/C0CC05376G>

LEE, J.; LEE, H. K. Fully Automated Dynamic In-Syringe Liquid-Phase Microextraction and On-Column Derivatization of Carbamate Pesticides with Gas Chromatography/Mass Spectrometric Analysis. **Analytical Chemistry**, [s. l.], v. 83, n.

- 17, p. 6856–6861, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/ac200807d>
- LIU, H.; DASGUPTA, P. K. Analytical Chemistry in a Drop. Solvent Extraction in a Microdrop. **Analytical Chemistry**, [s. l.], v. 68, n. 11, p. 1817–1821, 1996. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/ac960145h>
- LIU, J. *et al.* Use of Ionic Liquids for Liquid-Phase Microextraction of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. **Analytical Chemistry**, [s. l.], v. 75, n. 21, p. 5870–5876, 2003. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/ac034506m>
- LOPES, D. *et al.* Hollow-fiber renewal liquid membrane extraction coupled with 96-well plate system as innovative high-throughput configuration for the determination of endocrine disrupting compounds by high-performance liquid chromatography-fluorescence and diode array de. **Analytica Chimica Acta**, [s. l.], v. 1040, p. 33–40, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.aca.2018.07.032>
- LUIZ OENNING, A. *et al.* A green and low-cost method employing switchable hydrophilicity solvent for the simultaneous determination of antidepressants in human urine by gas chromatography - mass spectrometry detection. **Journal of Chromatography B**, [s. l.], v. 1143, p. 122069, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2020.122069>
- MACHADO, S. C. *et al.* A sensitive and accurate vortex-assisted liquid-liquid microextraction-gas chromatography-mass spectrometry method for urinary triazoles. **Journal of Chromatography A**, [s. l.], v. 1586, p. 9–17, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2018.11.082>
- MACIEL, E. V. S. *et al.* New materials in sample preparation: Recent advances and future trends. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, [s. l.], v. 119, p. 115633, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.115633>
- MAFRA, G. *et al.* Returning to nature for the design of sorptive phases in solid-phase microextraction. **Separations**, [s. l.], v. 7, n. 1, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/separations7010002>
- MAFRA, G. *et al.* Single drop microextraction in a 96-well plate format: A step toward automated and high-throughput analysis. **Analytica Chimica Acta**, [s. l.], v. 1063, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.aca.2019.02.013>
- MERCADANTE, R *et al.* Identification and Quantification of Metabolites of the Fungicide Tebuconazole in Human Urine. **Chemical Research in Toxicology**, [s. l.], v. 27, n. 11, p. 1943–1949, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/tx500291t>
- MERCADANTE, Rosa *et al.* Long-term occupational and environmental exposure to penconazole and tebuconazole by hair biomonitoring. **Toxicology Letters**, [s. l.], v. 298, p. 19–24, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2018.06.002>
- MERIB, J. *et al.* Determination of compounds with varied volatilities from aqueous samples using a polymeric ionic liquid sorbent coating by direct immersion-headspace solid-phase microextraction. **Analytical Methods**, [s. l.], v. 8, n. 20, p. 4108–4118,

2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/C6AY00423G>

MERIB, J. *et al.* Magnetic ionic liquids as versatile extraction phases for the rapid determination of estrogens in human urine by dispersive liquid-liquid microextraction coupled with high-performance liquid chromatography-diode array detection.

**Analytical and Bioanalytical Chemistry**, [s. l.], v. 410, n. 19, p. 4689–4699, 2018.

Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00216-017-0823-7>

MORELLI, D. C. *et al.* A green - high throughput –extraction method based on hydrophobic natural deep eutectic solvent for the determination of emerging contaminants in water by high performance liquid chromatography – diode array detection. **Journal of Chromatography A**, [s. l.], v. 1626, p. 461377, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2020.461377>

MOSTAFALOU, S.; ABDOLLAHI, M. Pesticides and human chronic diseases: Evidences, mechanisms, and perspectives. **Toxicology and Applied Pharmacology**, [s. l.], v. 268, n. 2, p. 157–177, 2013. Disponível em:

<https://doi.org/10.1016/j.taap.2013.01.025>

NACHAM, O. *et al.* Synthetic Strategies for Tailoring the Physicochemical and Magnetic Properties of Hydrophobic Magnetic Ionic Liquids. **Chemistry of Materials**, [s. l.], v. 27, n. 3, p. 923–931, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/cm504202v>

NAVITHA REDDY, G.; DILIP ZAGADE, A.; SENGUPTA, P. Current direction and advances in analytical sample extraction techniques for drugs with special emphasis on bioanalysis. **Bioanalysis**, [s. l.], v. 11, n. 4, p. 313–332, 2019. Disponível em:

<https://doi.org/10.4155/bio-2018-0144>

NTZANI, E. E. *et al.* Literature review on epidemiological studies linking exposure to pesticides and health effects. **EFSA Supporting Publications**, [s. l.], v. 10, n. 10, p. 497E, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.2903/sp.efsa.2013.EN-497>

PACHECO-FERNÁNDEZ, I. *et al.* Salt-induced ionic liquid-based microextraction using a low cytotoxic guanidinium ionic liquid and liquid chromatography with fluorescence detection to determine monohydroxylated polycyclic aromatic hydrocarbons in urine. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, [s. l.], v. 410, n. 19, p. 4701–4713, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00216-018-0946-5>

PASTOR-BELDA, M. *et al.* Magnetic carbon nanotube composite for the preconcentration of parabens from water and urine samples using dispersive solid phase extraction. **Journal of Chromatography A**, [s. l.], v. 1564, p. 102–109, 2018.

Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2018.06.025>

PEDERSEN-BJERGAARD, S.; RASMUSSEN, K. E. Liquid-phase microextraction with porous hollow fibers, a miniaturized and highly flexible format for liquid-liquid extraction. **Journal of Chromatography A**, [s. l.], v. 1184, n. 1, p. 132–142, 2008.

Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2007.08.088>

PIERSON, S. A. *et al.* Synthesis and characterization of low viscosity hexafluoroacetylacetonate-based hydrophobic magnetic ionic liquids. **New Journal of**

**Chemistry**, [s. l.], v. 41, n. 13, p. 5498–5505, 2017. Disponível em:  
<https://doi.org/10.1039/C7NJ00206H>

PINO, V. *et al.* Ionic Liquid-Based Surfactants in Separation Science. **Separation Science and Technology**, [s. l.], v. 47, n. 2, p. 264–276, 2012. Disponível em:  
<https://doi.org/10.1080/01496395.2011.620589>

PITULA, S.; MUDRING, A.-V. Synthesis, Structure, and Physico-optical Properties of Manganate(II)-Based Ionic Liquids. **Chemistry – A European Journal**, [s. l.], v. 16, n. 11, p. 3355–3365, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/chem.200802660>

PRZYJAZNY, A. Extraction | Liquid-Phase Microextraction. *In*: WORSFOLD, P. *et al.* (org.). Oxford: Academic Press, 2019. p. 52–62. Disponível em:  
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409547-2.12678-2>

REZAEI, M. *et al.* Determination of organic compounds in water using dispersive liquid–liquid microextraction. **Journal of Chromatography A**, [s. l.], v. 1116, n. 1, p. 1–9, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2006.03.007>

RIVERA-VERA, C. *et al.* Ionic liquids-based dispersive liquid-liquid microextraction for determination of carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons in tea beverages: Evaluation of infusion preparation on pollutants release. **Food Control**, [s. l.], v. 106, p. 106685, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.06.011>

ROMÁN, I. P. *et al.* Rapid determination of octanol–water partition coefficient using vortex-assisted liquid–liquid microextraction. **Journal of Chromatography A**, [s. l.], v. 1330, p. 1–5, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2014.01.003>

RUIZ-ACEITUNO, L.; SANZ, M. L.; RAMOS, L. Use of ionic liquids in analytical sample preparation of organic compounds from food and environmental samples. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, [s. l.], v. 43, p. 121–145, 2013. Disponível em:  
<https://doi.org/10.1016/j.trac.2012.12.006>

SANTE/12682/2019. **Guidance document on analytical quality control and method validation procedures for pesticide residues and analysis in food and feed**. [S. l.: s. n.], [s. d.].

SANTOS, E; ALBO, J.; IRABIEN, A. Magnetic ionic liquids: synthesis, properties and applications. **RSC Advances**, [s. l.], v. 4, n. 75, p. 40008–40018, 2014. Disponível em:  
<https://doi.org/10.1039/C4RA05156D>

SANTOS, Esther *et al.* Synthesis and characterization of Magnetic Ionic Liquids (MILs) for CO<sub>2</sub> separation. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology**, [s. l.], v. 89, n. 6, p. 866–871, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/jctb.4323>

SARAFRAZ-YAZDI, A.; AMIRI, A. Liquid-phase microextraction. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, [s. l.], v. 29, n. 1, p. 1–14, 2010. Disponível em:  
<https://doi.org/10.1016/j.trac.2009.10.003>

SCHUMMER, C. *et al.* Determination of farm workers' exposure to pesticides by hair

analysis. **Toxicology Letters**, [s. l.], v. 210, n. 2, p. 203–210, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2011.11.019>

SCOVAZZO, P. *et al.* Hydraulic pressures generated in Magnetic Ionic Liquids by paramagnetic fluid/air interfaces inside of uniform tangential magnetic fields. **Journal of Colloid and Interface Science**, [s. l.], v. 428, p. 16–23, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2014.04.023>

SEIDI, S.; REZAZADEH, M.; ALIZADEH, R. Miniaturized sample preparation methods for saliva analysis. **Bioanalysis**, [s. l.], v. 11, n. 2, p. 119–148, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.4155/bio-2018-0160>

SHIRVANI, S. *et al.* Magnetic Ionic Liquid in Magmolecular Process for Uranium Removal. **Chemical Engineering Research and Design**, [s. l.], v. 109, p. 108–115, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cherd.2016.01.014>

SILVEIRA, G. de O. *et al.* Green sample preparations for the bioanalysis of drugs of abuse in complex matrices. **Bioanalysis**, [s. l.], v. 11, n. 4, p. 295–312, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.4155/bio-2018-0208>

SŁOWIK-BOROWIEC, M.; SZPYRKA, E.; WALORCZYK, S. Gas chromatographic determination of pesticide residues in white mustard. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 173, p. 997–1005, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.06.125>

SOUZA-SILVA, É. A. *et al.* A critical review of the state of the art of solid-phase microextraction of complex matrices III. Bioanalytical and clinical applications. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, [s. l.], v. 71, p. 249–264, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.trac.2015.04.017>

ŠRÁMKOVÁ, I. H. *et al.* Direct-immersion single-drop microextraction and in-drop stirring microextraction for the determination of nanomolar concentrations of lead using automated Lab-In-Syringe technique. **Talanta**, [s. l.], v. 184, p. 162–172, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2018.02.101>

STANISZ, E.; WERNER, J.; ZGOŁA-GRZEŚKOWIAK, A. Liquid-phase microextraction techniques based on ionic liquids for preconcentration and determination of metals. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, [s. l.], v. 61, p. 54–66, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.trac.2014.06.008>

STRANDBERG, M.; SCOTT-FORDSMAND, J. J. Effects of pendimethalin at lower trophic levels—a review. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, [s. l.], v. 57, n. 2, p. 190–201, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2003.07.010>

STUBLESKI, J. *et al.* A method for analysis of marker persistent organic pollutants in low-volume plasma and serum samples using 96-well plate solid phase extraction. **Journal of Chromatography A**, [s. l.], v. 1546, p. 18–27, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2018.02.057>

TAXVIG, C. *et al.* Endocrine-Disrupting Activities In Vivo of the Fungicides Tebuconazole and Epoxiconazole. **Toxicological Sciences**, [s. l.], v. 100, n. 2, p. 464–

473, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfm227>

TRÖSKEN, E. R. *et al.* Comparative Assessment of the Inhibition of Recombinant Human CYP19 (Aromatase) by Azoles Used in Agriculture and as Drugs for Humans. **Endocrine Research**, [s. l.], v. 30, n. 3, p. 387–394, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1081/ERC-200035093>

TRUJILLO-RODRÍGUEZ, M. J. *et al.* Magnetic ionic liquids as non-conventional extraction solvents for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons. **Analytica Chimica Acta**, [s. l.], v. 934, p. 106–113, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.aca.2016.06.014>

TRUJILLO-RODRÍGUEZ, M. J.; ANDERSON, J. L. In situ formation of hydrophobic magnetic ionic liquids for dispersive liquid-liquid microextraction. **Journal of Chromatography A**, [s. l.], v. 1588, p. 8–16, 2019a. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2018.12.032>

TRUJILLO-RODRÍGUEZ, M. J.; ANDERSON, J. L. In situ generation of hydrophobic magnetic ionic liquids in stir bar dispersive liquid-liquid microextraction coupled with headspace gas chromatography. **Talanta**, [s. l.], v. 196, p. 420–428, 2019b. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2018.12.071>

TRUJILLO-RODRÍGUEZ, M. J.; GONZÁLEZ-HERNÁNDEZ, P.; PINO, V. **Analytical Applications of Ionic Liquid-Based Surfactants in Separation Science**. [S. l.: s. n.], 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/9781118854501.ch23>

TRUJILLO-RODRÍGUEZ, M. J.; PINO, V.; ANDERSON, J. L. Magnetic ionic liquids as extraction solvents in vacuum headspace single-drop microextraction. **Talanta**, [s. l.], v. 172, p. 86–94, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2017.05.021>

TSYGANKOV, V. Y. *et al.* Selected Organochlorines in Human Blood and Urine in the South of the Russian Far East. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, [s. l.], v. 99, n. 4, p. 460–464, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00128-017-2152-0>

VALLECILLOS, L.; POCURULL, E.; BORRULL, F. Fully automated ionic liquid-based headspace single drop microextraction coupled to GC–MS/MS to determine musk fragrances in environmental water samples. **Talanta**, [s. l.], v. 99, p. 824–832, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2012.07.036>

VARONA, M.; ANDERSON, J. L. Visual Detection of Single-Nucleotide Polymorphisms Using Molecular Beacon Loop-Mediated Isothermal Amplification with Centrifuge-Free DNA Extraction. **Analytical Chemistry**, [s. l.], v. 91, n. 11, p. 6991–6995, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.9b01762>

VIGHI, M.; MATTHIES, M.; SOLOMON, K. R. Critical assessment of pendimethalin in terms of persistence, bioaccumulation, toxicity, and potential for long-range transport. **Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B**, [s. l.], v. 20, n. 1, p. 1–21, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/10937404.2016.1222320>

WANG, Xiaojun *et al.* Effervescent tablets containing magnetic ionic liquids as a non-conventional extraction and dispersive agent for speciation of arsenite and arsenate in vegetable samples. **Journal of Molecular Liquids**, [s. l.], v. 272, p. 871–877, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2018.10.112>

WANG, Xuemei *et al.* Magnetic mesoporous molecularly imprinted polymers based on surface precipitation polymerization for selective enrichment of triclosan and triclocarban. **Journal of Chromatography A**, [s. l.], v. 1537, p. 35–42, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2018.01.023>

WANG, Y. *et al.* Magnetic ionic liquid-based dispersive liquid–liquid microextraction for the determination of triazine herbicides in vegetable oils by liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, [s. l.], v. 1373, p. 9–16, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2014.11.009>

WILL, C. *et al.* High-throughput approach for the in situ generation of magnetic ionic liquids in parallel-dispersive droplet extraction of organic micropollutants in aqueous environmental samples. **Talanta**, [s. l.], v. 223, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2020.121759>

WILL, Camila *et al.* Expanding the applicability of magnetic ionic liquids for multiclass determination in biological matrices based on dispersive liquid–liquid microextraction and HPLC with diode array detector analysis. **Journal of Separation Science**, [s. l.], v. 43, n. 13, p. 2657–2665, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/jssc.202000143>

WU, Y. *et al.* Selective and simultaneous determination of trace bisphenol A and tebuconazole in vegetable and juice samples by membrane-based molecularly imprinted solid-phase extraction and HPLC. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 164, p. 527–535, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.05.071>

YAMINI, Y.; REZAZADEH, M.; SEIDI, S. Liquid-phase microextraction – The different principles and configurations. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, [s. l.], v. 112, p. 264–272, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.trac.2018.06.010>

YAO, L. *et al.* Ultrasound-assisted surfactant-enhanced emulsification microextraction using a magnetic ionic liquid coupled with micro-solid phase extraction for the determination of cadmium and lead in edible vegetable oils. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 256, p. 212–218, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.02.132>

YAO, T.; DU, K. Simultaneous determination of sulfonamides in milk: In-situ magnetic ionic liquid dispersive liquid-liquid microextraction coupled with HPLC. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 331, p. 127342, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127342>

YAO, T.; YAO, S. Magnetic ionic liquid aqueous two-phase system coupled with high performance liquid chromatography: A rapid approach for determination of chloramphenicol in water environment. **Journal of Chromatography A**, [s. l.], v. 1481, p. 12–22, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2016.12.039>

YAVIR, K. *et al.* Ionic liquids in the microextraction techniques: The influence of ILs

structure and properties. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, [s. l.], v. 130, p. 115994, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.trac.2020.115994>

YOUSEFI, S. M.; SHEMIRANI, F.; GHORBANIAN, S. A. Enhanced headspace single drop microextraction method using deep eutectic solvent based magnetic bucky gels: Application to the determination of volatile aromatic hydrocarbons in water and urine samples. **Journal of Separation Science**, [s. l.], v. 41, n. 4, p. 966–974, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/jssc.201700807>

YU, H.; MERIB, J.; ANDERSON, J. L. Crosslinked polymeric ionic liquids as solid-phase microextraction sorbent coatings for high performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, [s. l.], v. 1438, p. 10–21, 2016a. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2016.02.027>

YU, H.; MERIB, J.; ANDERSON, J. L. Faster dispersive liquid-liquid microextraction methods using magnetic ionic liquids as solvents. **Journal of Chromatography A**, [s. l.], v. 1463, p. 11–19, 2016b. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2016.08.007>

YUSA, V. *et al.* Analytical methods for human biomonitoring of pesticides. A review. **Analytica Chimica Acta**, [s. l.], v. 891, p. 15–31, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.aca.2015.05.032>

ZHANG, C. *et al.* Rapid and sensitive analysis of polychlorinated biphenyls and acrylamide in food samples using ionic liquid-based in situ dispersive liquid-liquid microextraction coupled to headspace gas chromatography. **Journal of Chromatography A**, [s. l.], v. 1481, p. 1–11, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2016.12.013>

ZHOU, G.-S. *et al.* Hydrophilic interaction chromatography combined with ultrasound-assisted ionic liquid dispersive liquid-liquid microextraction for determination of underivatized neurotransmitters in dementia patients' urine samples. **Analytica Chimica Acta**, [s. l.], v. 1107, p. 74–84, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.aca.2020.02.027>

ZHU, C.; VARONA, M.; ANDERSON, J. L. Magnetic Ionic Liquids as Solvents for RNA Extraction and Preservation. **ACS Omega**, [s. l.], v. 5, n. 19, p. 11151–11159, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acsomega.0c01098>

## Produção científica no período do doutorado

MAFRA, GABRIELA; SPUDEIT, DANIEL; BROGNOLI, RAFAEL; MERIB, JOSIAS; CARASEK, EDUARDO. Expanding the applicability of cork as extraction phase for disposable pipette extraction in multiresidue analysis of pharmaceuticals in urine samples. **Journal of Chromatography B**, v. 1102, p. 159-166, 2018.

CARASEK, EDUARDO; MERIB, JOSIAS; MAFRA, GABRIELA; SPUDEIT, DANIEL. A recent overview of the application of liquid-phase microextraction to the determination of organic micro-pollutants. **Trac-Trends in Analytical Chemistry**, v. 108, p. 203-209, 2018.

MAFRA, GABRIELA; OENNING, ANDERSON LUIZ; DIAS, ADRIANA NEVES; MERIB, JOSIAS; BUDZIAK, DILMA; SILVEIRA, CRISTIAN BERTO DA; CARASEK, EDUARDO. Low-cost approach to increase the analysis throughput of bar adsorptive microextraction (BA $\mu$ E) combined with environmentally-friendly renewable sorbent phase of recycled diatomaceous earth. **Talanta**, v. 178, p. 886-893, 2018.

VIEIRA, CAMILA M.S.; MAFRA, GABRIELA; BROGNOLI, RAFAEL; RICHTER, PABLO; ROSERO-MOREANO, MILTON; CARASEK, EDUARDO. A high throughput approach to rotating-disk sorptive extraction (RDSE) using laminar cork for the simultaneous determination of multiclass organic micro-pollutants in aqueous sample by GC-MS. **Talanta**, v. 208, p. 120459, 2019.

BIRK, LETÍCIA; DE OLIVEIRA, SARAH ELLER FRANCO; MAFRA, GABRIELA; BROGNOLI, RAFAEL; CARPES, MARCOS JOSE SOUZA; SCOLMEISTER, DANIEL; CARASEK, EDUARDO; MERIB, JOSIAS DE OLIVEIRA; DE OLIVEIRA, TIAGO FRANCO. A low-voltage paper spray ionization QTOF-MS method for the qualitative analysis of NPS in street drug blotter samples. **Forensic Toxicology**, p. 1, 2019.

DA SILVA, ANA CRISTINE; MAFRA, GABRIELA; SPUDEIT, DANIEL; MERIB, JOSIAS; CARASEK, EDUARDO. Magnetic ionic liquids as an efficient tool for the multiresidue screening of organic contaminants in river water samples. **Separation Science Plus**, v. 2, p. 51-58, 2019.

MAFRA, GABRIELA; VIEIRA, AUGUSTO A.; MERIB, JOSIAS; ANDERSON, JARED L.; CARASEK, EDUARDO. Single drop microextraction in a 96-well plate format: a step toward automated and high-throughput analysis. **Analytica Chimica Acta**, v. 1063, p. 159-166, 2019.

MORELLI, DIOGO C.; MAFRA, GABRIELA; SANTOS, AMANDA V.; MERIB, JOSIAS; CARASEK, EDUARDO. Designing a green device to BA $\mu$ E: Recycled cork pellet as extraction phase for the determination of parabens in river water samples. **Talanta**, v. 219, p. 121369, 2020.

MAFRA, GABRIELA; BIRK, LETÍCIA; SCHEID, CAMILA; ELLER, SARAH; BROGNOLI, RAFAEL; DE OLIVEIRA, TIAGO FRANCO; CARASEK, EDUARDO; MERIB, JOSIAS. A straightforward and semiautomated membrane-based method as efficient tool for the determination of cocaine and its metabolites in urine samples using

liquid chromatography coupled to quadrupole time-of-flight-mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1621, p. 461088, 2020.

MAFRA, GABRIELA; GARCÍA-VALVERDE, MARÍA TERESA; MILLÁN-SANTIAGO, JAIME; CARASEK, EDUARDO; LUCENA, RAFAEL; CÁRDENAS, SOLEDAD. Returning to Nature for the Design of Sorptive Phases in Solid-Phase Microextraction. **Separations**, v. 7, p. 2, 2020.

WILL, CAMILA; HUELSMANN, RICARDO DAGNONI; MAFRA, GABRIELA; MERIB, JOSIAS; ANDERSON, JARED L.; CARASEK, EDUARDO. High-throughput approach for the *in-situ* generation of magnetic ionic liquids in parallel-dispersive droplet extraction of organic micropollutants in aqueous environmental samples. **Talanta**, v. 223, p. 121759, 2021.

MAFRA, GABRIELA; WILL, CAMILA; HUELSMANN, RICARDO DAGNONI; MERIB, JOSIAS; CARASEK, EDUARDO. A proof-of-concept of parallel single drop microextraction for the rapid and sensitive biomonitoring of pesticides in urine. **Journal of Separation Science**, v.44, p.1961-1968.

#### **Produção científica referente ao projeto Capes-Print 88887.310569/2018-00**

MAFRA, GABRIELA; BROGNOLI, RAFAEL; CARASEK, EDUARDO; LÓPEZ-LORENTE, ÁNGELA; LUQUE, RAFAEL; LUCENA, RAFAEL; CÁRDENAS, SOLEDAD. Photocatalytic cellulose-paper: deepening in the sustainable and synergic combination of sorption and photodegradation. **ACS Omega**, v.14, p. 9577-9586.

**Doutorado Sanduíche pelo Programa Capes-Print/UFSC na Universidad de Cordoba (Espanha) no período de maio/2019 a agosto/2020, interrompido pela pandemia da Covid-19.**

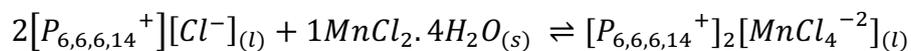
#### **Capítulos de Livro**

MAFRA, G *et al.*; Returning to Nature for the Design of Sorptive Phases in Solid-Phase Microextraction. Em: TAGARELLI, Attilio e NACCARATO, Antonio. **Advances in Solid-Phase Microextraction**. Basel: MDPI, 2020. p. 1-170.

LLAVER, M *et al.*; Ionic Liquids. Em: LUCENA Rafael, e CARDENAS, M. Soledad. **Analytical Sample Preparation with Nano - and other High-Performance Materials**. Amsterdã: Elsevier, 2021. p. 1-24

## ANEXO I – Cálculo estequiométrico para a síntese de [P6,6,6,14+]<sub>2</sub>[MnCl4-2]

Equação química:

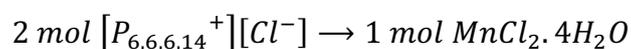


Dados:

$$MM_{IL} = 519,31 \text{ g mol}^{-1}$$

$$MM_{MnCl_2 \cdot 4H_2O} = 197,91 \text{ g mol}^{-1}$$

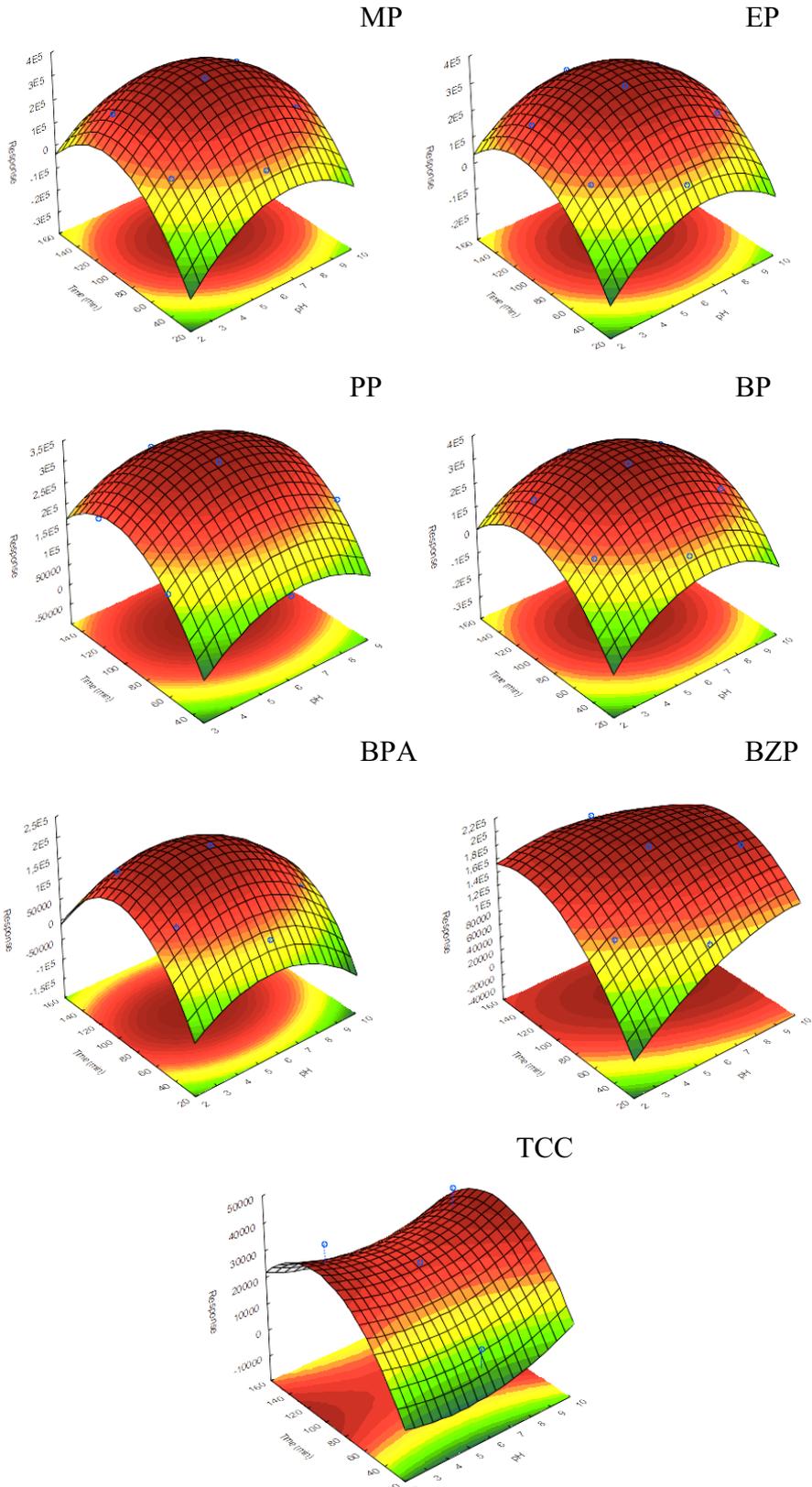
Pela reação estequiométrica:



Considerando as massas molares:

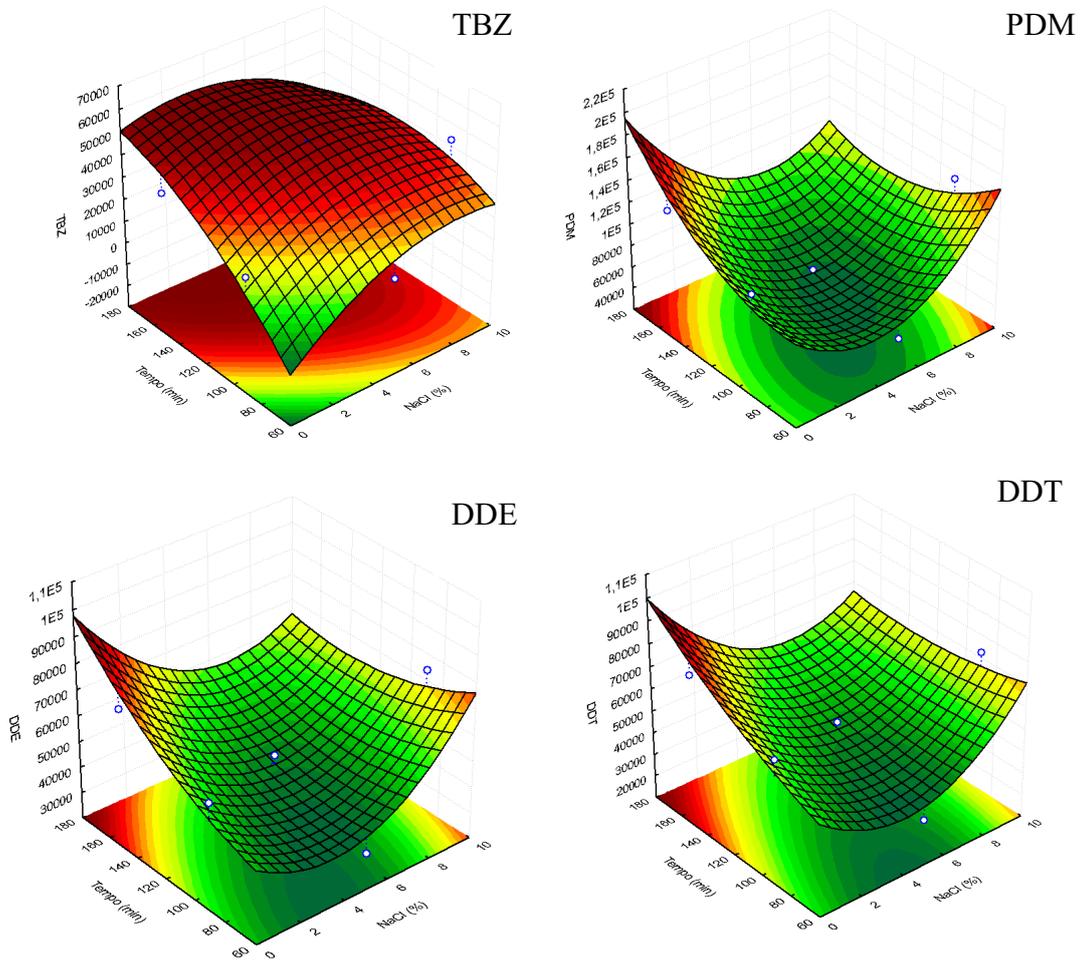
$$\begin{aligned} 1038,62 \text{ g } [P_{6,6,6,14}^+][Cl^-] &\rightarrow 197,91 \text{ g } MnCl_2 \cdot 4H_2O \\ 5 \text{ g } [P_{6,6,6,14}^+][Cl^-] &\rightarrow x \text{ g } MnCl_2 \cdot 4H_2O \\ x &= 1,61 \text{ g } MnCl_2 \cdot 4H_2O \end{aligned}$$

**ANEXO II - Superfícies de resposta obtidas a partir do planejamento Doehlert referentes à Figura 17, avaliando cada analito individualmente.**



Analitos: MP, metilparabeno; EP, etilparabeno; PP, propilparabeno; BPA, bisfenol A; BP, butilparabeno; BzP, benzofenona e TCC, triclocarban.

**ANEXO III - Superfícies de resposta obtidas a partir do planejamento Doehlert referentes à Figura 23, avaliando cada analito individualmente.**



Analitos: TBZ, Tebuconazol; PDM, Pendimetalina; DDE, DDT.