



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

Camila Will

Extração em gota dispersiva acoplada a um sistema de alta frequência analítica utilizando líquido iônico magnético *in situ* para a determinação de contaminantes orgânicos em amostras de água e bebidas por HPLC-DAD

Florianópolis
2024

Camila Will

Extração em gota dispersiva acoplada a um sistema de alta frequência analítica utilizando líquido iônico magnético *in situ* para a determinação de contaminantes orgânicos em amostras de água e bebidas por HPLC-DAD

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

Orientador: Prof. Eduardo Carasek da Rocha, Dr.

Florianópolis

2024

Will, Camila

Extração em gota dispersiva acoplada a um sistema de alta frequência analítica utilizando líquido iônico magnético in situ para a determinação de contaminantes orgânicos em amostras de água e bebidas por HPLC-DAD / Camila Will ; orientador, Eduardo Carasek, 2024.

165 p.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Físicas e Matemáticas, Programa de Pós-Graduação em Química, Florianópolis, 2024.

Inclui referências.

1. Química. 2. Preparo de amostras. 3. Líquidos Iônicos Magnéticos. 4. Cromatografia. I. Carasek, Eduardo. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Química. III. Título.

Camila Will

Extração em gota dispersiva acoplada a um sistema de alta frequência analítica utilizando líquido iônico magnético *in situ* para a determinação de contaminantes orgânicos em amostras de água e bebidas por HPLC-DAD

O presente trabalho em nível de Doutorado foi avaliado e aprovado, em 16 de fevereiro de 2024, pela banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof. Leandro Wang Hantao, Dr.
Instituto de Química - Unicamp

Prof.(a) Maria Eliana Lopes Ribeiro Queiroz, Dr.(a)
Instituto de Química - UFV

Prof. Diego Galvan, Dr.
Departamento de Química - UFSC

Edson Roberto Santana, Dr.
Departamento de Química - UFSC

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.

Insira neste espaço a
assinatura digital

Coordenação do Programa de Pós-Graduação

Insira neste espaço a
assinatura digital

Prof. Eduardo Carasek da Rocha, Dr.
Orientador

Florianópolis, 2024.

Dedico este trabalho a minha família e amigos

AGRADECIMENTOS

Ao meu noivo, William, por estar ao meu lado durante a minha jornada acadêmica, comemorando os momentos felizes e sempre me incentivando e auxiliando a superar os desafios. Agradecimentos especiais a minha mãe, Suzane, e meu pai, César, por todo incentivo que vocês me deram para estudar. Aos meus irmãos, Henrique e Daniella também pelo incentivo e apoio. Também agradeço a família do meu noivo, principalmente meu sogro e sogra, Lourenil e Benvinda, pelo apoio, torcida e acolhimento.

Gostaria de agradecer ao meu orientador, Prof. Eduardo Carasek por todos os ensinamentos passados durante esses anos, também pela paciência. Com certeza, o senhor foi de extrema importância para o meu desenvolvimento profissional

Aos meus colegas e amigos do CROMAAS que tornaram os dias no laboratório mais divertidos e muitos deles serviram de rede de apoio nos momentos tristes e felizes, principalmente a Gabriela Garcia, Francielle, Amanda, Natália, Gabriela Mafra, Augusto, Ricardo B. e Lucas Morés. Também gostaria de agradecer a Gabriela Garcia, Gabriela W., Amanda, Maria Duda e Natália que eu aprendi muito ao orientar e colaborar em seus trabalhos.

Um agradecimento a todos os meus amigos pelos momentos de descontração e apoio.

Também a banca da qualificação composta pelos professores Luciano Vitali, Eduardo Chaves, Juliana Paula da Silva e Ricardo Ferreira Affeldt pelas contribuições que ajudaram a enriquecer o presente projeto. Um agradecimento especial ao prof. Eduardo Chaves e os alunos Morgana e Amauri do laboratório LEMA por auxiliarem em medidas para melhorar as justificativas dos resultados da tese. Agradeço também a prof. Rosely Aparecida Peralta e as alunas Edinara e Daniele por auxiliarem na produção do material e nas análises e interpretações por espectrometria de massas. Gostaria de agradecer também o professor Jared Anderson pela colaboração para o desenvolvimento do presente trabalho.

Agradeço também ao programa de Pós-graduação em Química e a UFSC pela estrutura e ensino gratuito de qualidade. Agradeço também a todos os professores e servidores que me auxiliaram durante essa jornada, compartilhando seus conhecimentos que contribuíram muito para a minha formação. Também agradeço as agências CAPES e CNPq, em especial o CNPq pela bolsa de estudos

que auxiliou a financiar materiais necessários a pesquisa e que permitiu dedicação exclusiva ao programa de Pós-graduação em química.

RESUMO

Neste trabalho líquidos iônicos magnéticos (MILs) formados durante o procedimento de extração (*in situ*) foram utilizados na técnica de extração em gota dispersiva paralela (Pa-DDE) combinada ao sistema de 96 poços de amostragem utilizando como instrumento de análise um HPLC-DAD. Primeiramente, a viabilidade do sistema foi avaliada para determinação de diversos contaminantes, sendo eles pesticidas, filtros UV e um antisséptico, em amostras de água. Parâmetros como tipo e quantidade de MIL utilizado, tempo de extração e porcentagem de sal da amostra foram otimizados. Com as condições ótimas, curvas de calibração foram obtidas por adição de padrão em uma amostra de água da torneira isenta dos analitos. Os valores de LOQ foram todos de $25 \mu\text{g L}^{-1}$ e os coeficientes de determinação (R^2) foram todos superiores a 0,989. O método também foi avaliado por sua precisão, que apresentou valores de desvio padrão relativo menores que 22,9%, sendo considerada adequada. Também foi avaliada sua exatidão por meio de ensaios de recuperação relativa realizada em três amostras de água de rio cujos valores variaram de 53,9 a 129,1%, sendo que em sua maioria os valores foram considerados adequados para garantir a exatidão do método. Em seguida, foi avaliada a aplicação do método em amostras de cachaça e rum, as quais foram selecionadas para a determinação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos. O método foi otimizado para essas amostras, e percebeu-se que era necessário utilizar uma quantidade maior de MIL para garantir os melhores resultados, o que pode estar relacionado com a formação do MIL numa amostra complexa e sua solubilidade aumentada pela fração orgânica dessas amostras. Com o método otimizado, foram construídas curvas de calibração em solução hidroalcolica (40% (v/v)), sendo obtidos LOQs que variaram de 1 a $25 \mu\text{g L}^{-1}$ e R^2 superiores a 0,991. Também foi avaliada a precisão do método cujos valores de RSD foram inferiores a 26,2%, sendo considerada adequada conforme guias de validação. Em seguida, foram realizados estudos de recuperação relativa em amostras de cachaça e rum com valores que variaram de 52,1 a 150,1%, neste caso a maioria dos valores foi considerada adequada e pequenas alterações podem estar correlacionadas com alterações na composição dessas amostras devido a diferenças nos processos de produção. É importante destacar que esforços ainda devem ser feitos para entender a interação desse MIL com a amostra e analito, para poder utilizá-lo em outras amostras, além de fornecer alternativas para contornar os problemas relacionados com a sua injeção em instrumentos de HPLC-DAD. No entanto, os dois métodos desenvolvidos destacam-se como alternativas verdes pela alta frequência analítica proporcionada pelo uso do sistema de 96 poços de amostragem, que permite que até 96 amostras sejam processadas simultaneamente, tendo tempos de extração por amostra de menos de 1 minuto para ambos os métodos. Ademais, o trabalho também se destaca pela redução no consumo de amostra e fase extratora, sendo uma opção para redução da geração de resíduos e atendendo princípios da química analítica verde e do preparo de amostras verde.

Palavras-chave: líquidos iônicos magnéticos; formação *in situ*; 96-well plate; Cromatografia; extrações simultâneas; Pa-DDE.

ABSTRACT

In this work magnetic ionic liquids (MILs) formed during the extraction process (in situ) were used in the technique parallel dispersive droplet extraction (Pa-DDE) coupled with the 96-well plate system with analysis by HPLC-DAD. Firstly, the system viability was evaluated to be used for the determination of diverse contaminants, such as pesticides, UV filters and one antiseptic, in environmental water samples. Parameters such as type and amount of MIL, extraction time e percentage of salt added to the sample were optimized. The optimal conditions were used to construct calibration curves by analyte addition using tap water without the analytes. All the values of LOQ were $25 \mu\text{g L}^{-1}$ and the determination coefficients (R^2) were all higher than 0,989. Method's precision was also evaluated, with values for relative standard deviation lower than 22.9%, which were considered adequate. Also, accuracy was assessed through relative recovery assays applied to three water samples with values varying from 53.9 to 129.1%, most of these results were considered adequate to ensure method's accuracy. Then, the application of the method to cachaça and rum samples was assessed, which were selected for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons. The method was optimized for these samples, it was noted that in order to achieve the best results it was necessary to use higher amounts of MIL, which can be related to the formation of MIL in a more complex sample and a solubility increase of MIL due to the organic fraction of these samples. With the optimized method, calibration curves were performed using hydroalcoholic solutions (40% (v/v)) with LOQs varying from 1 to $25 \mu\text{g L}^{-1}$ and R^2 higher than 0.991. Moreover, method's precision was evaluated with RSD values lower than 26.2%, results considered adequate according to international guidelines. After that, relative recovery studies performed using cachaça and rum samples had results varying from 52.1 to 150.1%, in this case most of the results were considered adequate to assure method's accuracy and small variations were observed probably related to alterations in the composition of these samples due to different production processes. It is important to highlight that efforts are still to be made in order to understand the interaction of this MIL with the sample and analytes. It is also important to find alternatives to overcome the problems related to its direct injection in HPLC-DAD instruments. However, both developed methods stand out as green alternatives due to its high sample throughput provided by the use of the 96-well plate system, which allows the preparation of up to 96 samples simultaneously, with extraction times per sample of less than 1 minute. In addition, both methods also stand out due to the reduction of sample and extraction phase consumption, being an alternative to decrease the generation of residue, therefore, in accordance with the principles of green analytical chemistry and sample preparation.

Keywords: magnetic ionic liquids; *in situ* formation; 96-well plate; chromatography; simultaneous extractions; Pa-DDE.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Modos de extração da SDME. Em A) modo realizado no headsapace (HS-SDME) e em B) modo de imersão direta (DI-SDME).	28
Figura 2. Procedimento convencional da DLLME.	32
Figura 3 . Sistemas de 96 poços de amostragem para preparo de amostras, sendo (A) sistema completamente automatizado e (B) sistema semi-automatizado.	35
Figura 4. Componentes do sistema de 96 poços de amostragem utilizadas para preparo de amostras.	35
Figura 5. Esquema da combinação do sistema de <i>96-well plate</i> com LPME. Em A é representada a extração líquido-líquido em membrana microporosa em fibra oca (HF-MMLLE), em B a extração em membrana líquida artificial paralela (PALME) e em C a microextração em gota única paralela (Pa-SDME).	44
Figura 6. Estrutura dos MILs <i>in situ</i> explorados por Trujillo-Rodríguez e Anderson (2019). Onde M representa Ni(II) e R os radicais benzil e butil.	59
Figura 7. Representação da formação <i>in situ</i> de MILs	60
Figura 8. Procedimento de preparo de amostra Pa-DDE simplificado e preparo da amostra para análise por FAAS.	66
Figura 9. Espectro de massas obtido para $[\text{Co}(\text{C}_4\text{IM})_4]\text{Cl}_2$ feitos em acetonitrila.	70
Figura 10. Representação da comparação do fragmento de razão massa carga de 466 com a distribuição isotópica para as estruturas propostas.	71
Figura 11. Representação da comparação do fragmento de razão massa carga de 502 com a distribuição isotópica para as estruturas propostas.	71
Figura 12. Representação da comparação do fragmento de razão massa carga de 277 com a distribuição isotópica para as estruturas propostas.	72
Figura 13. Representação da comparação para a razão massa carga 466 com a distribuição isotópica para as estruturas propostas antes e após a reação <i>in situ</i>	73
Figura 14. Representação da comparação para a razão massa carga 502 com a distribuição isotópica para as estruturas propostas antes e após a reação <i>in situ</i>	73
Figura 15. Representação da comparação para a razão massa carga 277 com a distribuição isotópica para as estruturas propostas antes e após a reação <i>in situ</i>	74
Figura 16. Esquema do procedimento experimental.	82

Figura 17. Gráfico obtido para estudo de eficiência de extração utilizando diferentes CPs para determinação de contaminantes emergentes em água. Condições: 1,15 mL de água ultrapura fortificada a $300 \mu\text{g L}^{-1}$ de cada um dos analitos, adição de 280 a $300 \mu\text{L}$ da solução do CP 10 g L^{-1} , agitação por 5 min, então adição de $30 \mu\text{L}$ de solução de LiNTf_2 92 g L^{-1} , agitação mantida por 30 min, coleta dos ímãs e diluição do MIL em $20 \mu\text{L}$ de ACN ($n=3$).85

Figura 18. Gráfico de Pareto obtido para o planejamento fatorial completo. Condições: 1,15 mL de água ultrapura fortificada a $300 \mu\text{g L}^{-1}$ de cada um dos analitos, adição de $300 \mu\text{L}$ da solução de $[\text{Co}(\text{C}_4\text{IM})_4]\text{Cl}_2$ de diferentes concentrações, agitação por 5 min, então adição de $120 \mu\text{L}$ de solução de LiNTf_2 de concentrações variadas, agitação mantida por tempo variado, coleta dos ímãs e diluição do MIL em $20 \mu\text{L}$ de ACN.....88

Figura 19. Superfícies de respostas obtidas com o planejamento Box-Behnken. Condições: 1,25 mL de água ultrapura fortificada a $300 \mu\text{g L}^{-1}$ de cada um dos analitos, adição de $125 \mu\text{L}$ da solução de $[\text{Co}(\text{C}_4\text{IM})_4]\text{Cl}_2$ de diferentes concentrações, agitação por 5 min, então adição de $50 \mu\text{L}$ de solução de LiNTf_2 de concentrações variadas, agitação mantida por tempo variado, coleta dos ímãs e diluição do MIL em $20 \mu\text{L}$ de ACN.....90

Figura 20. Avaliação do solvente dispersor para in situ Pa-DDE. Condições: 1,25 mL de água ultrapura fortificada a $300 \mu\text{g L}^{-1}$ de cada um dos analitos, adição de $100 \mu\text{L}$ de uma solução 40 g L^{-1} de $[\text{Co}(\text{C}_4\text{IM})_4]\text{Cl}_2$ e de $60 \mu\text{L}$ do solvente dispersor, agitação por 5 min, então adição de $40 \mu\text{L}$ de solução de LiNTf_2 92 g L^{-1} , agitação mantida por 75 min, coleta dos ímãs e diluição do MIL em $20 \mu\text{L}$ de ACN.92

Figura 21. Cromatogramas da amostra A fortificada a $500 \mu\text{g L}^{-1}$ (vermelho) e sem fortificação (preto).....95

Figura 22. Cromatogramas da amostra B fortificada a $500 \mu\text{g L}^{-1}$ (vermelho) e sem fortificação (preto).....95

Figura 23. Cromatogramas da amostra C fortificada a $500 \mu\text{g L}^{-1}$ (vermelho) e sem fortificação (preto).....96

Figura 24. Gráfico de Lenth realizado para a avaliação da robustez do método. Sendo A: Volume da solução de $[\text{Co}(\text{C}_4\text{IM})_4]\text{Cl}_2$, B: Volume da solução de LiNTf_2 , C: Tempo de dispersão, D: Tempo de extração, E: Volume de amostra, F: Volume de ACN.....97

Figura 25. Seleção do cátion precursor do MIL. Condições: 1,2 mL de amostra de cachaça fortificadas em $150 \mu\text{g L}^{-1}$, 230 μL de uma solução hidroalcoólica 30 g L^{-1} do CP e 70 μL de uma solução aquosa de LiNTf_2 92 g L^{-1} e 45 minutos de extração.

..... 110

Figura 26. Superfície de resposta obtida para o planejamento Doehlert utilizado para seleção de tempo de extração e quantidade de CP. Condições: 1,2 mL de amostra de cachaça fortificada em $150 \mu\text{g L}^{-1}$, volumes variados de uma solução hidroalcoólica de $[\text{Co}(\text{C}_4\text{IM})_4]\text{Cl}_2$ 40 g L^{-1} e uma solução aquosa de LiNTf_2 92 g L^{-1} , mantendo a proporção 1:2 ($[\text{Co}(\text{C}_4\text{IM})_4]\text{Cl}_2$: LiNTf_2).

112

Figura 27. Cromatogramas em 254 nm dos extratos da amostra A sem fortificação (azul) e fortificada em $150 \mu\text{g L}^{-1}$ (vermelha). Sendo: 1) FLU, 2) PHEN, 3) ANT, 4) FLT, 5) PYR, 6) CRY + BaA, 7) BbF, 8) BaP, 9) DBahA, 10) BghiP e 11) IP.

..... 118

Figura 28. Cromatogramas em 254 nm dos extratos da amostra B sem fortificação (azul) e fortificada em $150 \mu\text{g L}^{-1}$ (vermelha). Sendo: 1) FLU, 2) PHEN, 3) ANT, 4) FLT, 5) PYR, 6) CRY + BaA, 7) BbF, 8) BaP, 9) DBahA, 10) BghiP e 11) IP.

..... 118

Figura 29. Cromatogramas em 254 nm dos extratos da amostra C sem fortificação (azul) e fortificada em $150 \mu\text{g L}^{-1}$ (vermelha). Sendo: 1) FLU, 2) PHEN, 3) ANT, 4) FLT, 5) PYR, 6) CRY + BaA, 7) BbF, 8) BaP, 9) DBahA, 10) BghiP e 11) IP.

..... 119

Figura 30. Cromatogramas em 254 nm dos extratos da amostra D sem fortificação (azul) e fortificada em $150 \mu\text{g L}^{-1}$ (vermelha). Sendo: 1) FLU, 2) PHEN, 3) ANT, 4) FLT, 5) PYR, 6) CRY + BaA, 7) BbF, 8) BaP, 9) DBahA, 10) BghiP e 11) IP.

..... 120

Figura 31. Cromatogramas em 254 nm dos extratos da amostra E sem fortificação (azul) e fortificada em $150 \mu\text{g L}^{-1}$ (vermelha). Sendo: 1) FLU, 2) PHEN, 3) ANT, 4) FLT, 5) PYR, 6) CRY + BaA, 7) BbF, 8) BaP, 9) DBahA, 10) BghiP e 11) IP.

..... 121

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. O uso do sistema de 96-well plate no preparo de amostras.	37
Tabela 2. Aplicação de líquidos iônicos magnéticos como fase extratora em preparo de amostra.	53
Tabela 3. Comparação da solubilidade dos MILs na amostra durante o procedimento de preparo.	67
Tabela 4. Solubilidade do MIL formado em amostra de cachaça	68
Tabela 5. Comparação entre a solubilidade do MIL de $[\text{Co}(\text{C}_4\text{IM})_4]\text{Cl}_2$ em amostras de água e cachaça.	69
Tabela 6. Estrutura e propriedades dos analitos selecionados para este trabalho.	77
Tabela 7. Experimentos do planejamento fatorial completo in situ MIL Pa-DDE.	79
Tabela 8. Experimentos do planejamento Box Behnken in situ MIL Pa-DDE.	80
Tabela 9. Experimentos realizados para o teste de robustez	84
Tabela 10. Resumo dos resultados obtidos pelos testes ANOVA de fator único com 95% de confiança para avaliação dos diferentes tipos de CP.	86
Tabela 11. Resumo dos resultados obtidos com teste ANOVA de fator único com 95% de confiança para avaliação da adição de um solvente dispersor.	92
Tabela 12. Parâmetros analíticos de mérito obtidos com as curvas de calibração construídas em amostras de água da torneira. O fator de enriquecimento foi realizado em solução fortificada a $500 \mu\text{g L}^{-1}$	93
Tabela 13. Resultados do estudo de precisão e recuperação.	94
Tabela 14. Tabela comparativa das principais características do presente método com outros presentes na literatura.	99
Tabela 15. Estruturas e propriedades físico-químicas dos HPAs.	102
Tabela 16. Planejamento Doehlert utilizado para otimização da massa de MIL e tempo de extração para amostras de cachaça.	107
Tabela 17. Parâmetros analíticos de mérito obtidos para aplicação do método otimizado em soluções hidroalcolólicas (40%, v:v) fortificadas.	113
Tabela 18. Valores obtidos de precisão para o método de Pa-DDE para amostras simuladas de cachaça.	114

Tabela 19. Estudos de recuperação relativa para o método de Pa-DDE para amostras de cachaça	116
Tabela 20. Tabela comparativa de métodos encontrados na literatura para determinação de HPAs em amostras de bebidas alcoólicas.....	123

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

4-MBC	4-metilbenzeldene cânfora
ANT	Antraceno
BA μ E	Microextração em barra adsortiva, do inglês <i>bar adsorptive microextraction</i>
BaA	Benzo(a)antraceno
BaP	Benzo(a)pireno
BbF	Benzo(b)fluoranteno
BghiP	Benzo[ghi]perileno
BZF	Benzofenona
CP	Precursor do cátion, do inglês <i>Cation precursor</i>
CRY	Criseno
DAD	Detector por arranjo de diodos, do inglês <i>diode array detector</i>
DBahA	Dibenz[a, h] antraceno
DDE	extração em gota dispersiva, do inglês <i>dispersive droplet extraction</i>
DES	Solventes eutéticos profundos, do inglês <i>deep eutectic solvents</i>
DLLME	Microextração líquido-líquido dispersiva, do inglês <i>dispersive liquid-liquid microextraction</i>
DLLME-SFOD	Microextração líquido-líquido dispersiva baseada na solidificação da gota orgânica flutuante, do inglês <i>dispersive liquid-liquid microextraction with solidified floating organic droplet</i>
DPX	Extração em ponteira descartável, do inglês <i>disposable pipette extraction</i>
dSPE	Extração em fase sólida dispersiva, do inglês <i>dispersive solid phase extraction</i>
EF	Fator de enriquecimento, do inglês <i>enrichment factor</i>
EHMC	2-etilhexil-4-metoxicinamato
FLT	Fluoranteno
FLU	Fluoreno
GAC	Química Analítica Verde, do inglês <i>Green Analytical Chemistry</i>
GSP	Preparo de Amostras Verde, do inglês <i>Green Sample Preparation</i>

HF-LPME	Microextração em fase líquida em fibra oca, do inglês <i>hollow fiber liquid phase microextraction</i>
HF-MMLLE	Extração líquido-líquido em membrana microporosa em fibra oca, do inglês <i>hollow fiber-membrane microporous liquid-liquid extraction</i>
HPAs	Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos
HPLC	Cromatografia líquida de alta performance, do inglês <i>high performance liquid chromatography</i>
IL	Líquido Iônico, do inglês <i>ionic liquid</i>
IP	Indeno(1, 2, 3-cd)pireno
LLE	Extração líquido-líquido, do inglês <i>liquid-liquid extraction</i>
LOD	Limite de Detecção, do inglês <i>limit of detection</i>
LOQ	Limite de Quantificação, do inglês <i>limit of quantification</i>
MIL	Líquidos iônicos magnéticos, do inglês <i>magnetic ionic liquids</i>
MSPD	Dispersão em matriz em fase sólida, do inglês <i>Matrix Solid Phase Dispersion</i>
MTC	Metolacoloro
NTf ₂ ⁻	bis(trifluorometilsulfonil)imida
Pa-DDE	Extração em gota dispersiva paralela, do inglês <i>Parallel dispersive droplet extraction</i>
PALME	Extração em membrana líquida artificial paralela, do inglês <i>Parallel artificial liquid membrane extraction</i>
Pa-SDME	Microextração em gota única paralela, do inglês <i>parallel single droplet microextraction</i>
PDM	Pendimentalina
PHEN	Fenantreno
PILs	Líquidos Iônicos poliméricos, do inglês <i>polymeric ionic liquids</i>
PYR	Pireno
R ²	Coeficiente de determinação
SBDLME	microextração líquido dispersiva em barra agitação, do inglês <i>stir bar dispersive liquid microextraction</i>
SBSE	Extração sortiva em barra de agitação, do inglês <i>stir bar sorptive extraction</i>

SDE	extração em gota única, do inglês <i>single droplet extraction</i>
SDME	Microextração em gota única, do inglês <i>single droplet microextraction</i>
SHS	Solvente de hidrofiliçidade comutável, do inglês <i>Switchable hydrophilicity solvent</i>
SPE	Extração em fase sólida, do inglês <i>solid phase extraction</i>
SPME	Microextração em fase sólida, do inglês <i>solid phase microextraction</i>
SUPRAS	Supramoleculares
TCC	Triclocarban
TF-SPME	Microextração em fase sólida em filme fino, do inglês <i>thin film solid phase microextraction</i>

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	20
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	22
2.1	QUÍMICA ANALÍTICA VERDE	22
2.2	TÉCNICAS DE PREPARO DE AMOSTRAS.....	24
2.2.1	Microextração em gota única (SDME)	27
2.2.2	Microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME)	31
2.3	APLICAÇÕES DO USO DO SISTEMA DE 96-WELL PLATE PARA EXTRAÇÕES PARALELAS EM PREPARO DE AMOSTRAS.....	33
2.4	USO DE MATERIAIS EXTRATORES ALTERNATIVOS.....	46
2.4.1	LÍQUIDOS IÔNICOS	46
2.4.1.1	<i>LÍQUIDOS IÔNICOS MAGNÉTICOS</i>	50
3	OBJETIVOS	63
3.1	OBJETIVO GERAL	63
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	63
4	SINTESE E CARACTERIZAÇÃO DOS MILS UTILIZADOS	64
4.1	SINTESE DOS PRECURSORES DO CÁTION (CP) DO MIL HIDROFÓBICO 64	
4.1.1	Materiais e reagentes	64
4.1.2	Procedimento experimental	64
4.2	CARACTERIZAÇÃO DOS MATERIAIS SINTETIZADOS	65
4.2.1	Materiais e Métodos	65
4.2.1.1	<i>Determinação da solubilidade do MIL hidrofóbico formado em diferentes amostras por Espectrometria de Absorção Atômica em Chama (FAAS)</i> ..	65
4.2.1.1.1	Materiais e reagentes	65
4.2.1.1.2	Instrumentação analítica.....	65
4.2.1.1.3	Preparo das amostras	65
4.2.1.2	<i>Espectrometria de massas</i>	66
4.2.2	Resultados experimentais	67
4.2.2.1	<i>Determinação da solubilidade do MIL hidrofóbico formado em diferentes amostras por Espectrometria de Absorção Atômica em Chama (FAAS)</i> ..	67
4.2.2.2	<i>Espectrometria de massas</i>	69

5	MÉTODO DE ALTA FREQUÊNCIA ANALÍTICA PARA FORMAÇÃO <i>IN SITU</i> DE LÍQUIDOS IÔNICOS MAGNÉTICOS APLICADOS A EXTRAÇÃO EM GOTA DISPERSIVA PARALELA PARA ANÁLISE DE CONTAMINANTES ORGÂNICOS EM AMOSTRAS DE ÁGUA	75
5.1	INTRODUÇÃO	75
5.2	MATERIAIS E MÉTODOS	77
5.2.1	Reagentes e materiais	77
5.2.2	Instrumentação	78
5.2.3	Otimização do procedimento de extração	78
5.2.4	Procedimento otimizado de Pa-DDE	81
5.2.5	Determinação dos parâmetros analíticos de mérito	82
5.3	RESULTADOS E DISCUSSÕES	85
5.3.1	Seleção da fase extratora	85
5.3.2	Planejamento fatorial completo	87
5.3.3	Planejamento Box Behnken	89
5.3.4	Avaliação da adição de solvente dispersor	91
5.3.5	Parâmetros analíticos de mérito	92
5.3.6	Comparação com demais métodos da literatura	97
5.4	CONSIDERAÇÕES PARCIAIS	101
6	DESENVOLVIMENTO DE UMA MÉTODO DE ALTA FREQUÊNCIA ANALÍTICA BASEADA NA EXTRAÇÃO EM GOTA DISPERSIVA E O USO DE MILS FORMADOS <i>IN SITU</i> COMO UMA ALTERNATIVA PARA A DETERMINAÇÃO DE HIDROCARBONETOS POLICÍCLICOS AROMÁTICOS EM BEBIDAS DESTILADAS USANDO HPLC-DAD	102
6.1	INTRODUÇÃO	102
6.2	MATERIAIS E MÉTODOS	105
6.2.1	Materiais e Reagentes	105
6.2.2	Instrumentação analítica	106
6.2.3	Otimização do procedimento de extração	106
6.2.4	Procedimento de extração otimizado	108
6.2.5	Determinação dos parâmetros analíticos de mérito	108
6.3	RESULTADOS E DISCUSSÕES PARCIAIS	109
6.3.1	Seleção da fase extratora	109

6.3.2	Planejamento Doehlert para determinação de tempo de extração e massa de MIL utilizado	111
6.3.3	Obtenção dos parâmetros analíticos de mérito	113
6.3.4	Comparação com demais métodos da literatura	121
6.4	CONSIDERAÇÕES PARCIAIS	124
7	CONCLUSÕES FINAIS E PERSPECTIVAS	126
	REFERÊNCIAS	128
	APÊNDICE A.....	146

1 INTRODUÇÃO

Em vista do desenvolvimento sustentável e da redução do impacto ao meio ambiente proporcionado por diversas ações dos seres humanos, vários setores vêm discutindo e aplicando novas práticas, e na química não é diferente. Em 1990 foi introduzido o conceito de Química Verde e seus 12 princípios, em que foram propostas algumas práticas para redução dos impactos das atividades dos químicos. Porém, alguns desses princípios não podiam ser aplicados à química analítica e alguns anos depois, em 2012, foram propostos os princípios da Química Analítica Verde. Dentre esses princípios, destaca-se a necessidade de miniaturização, automatização, redução do consumo de reagentes tóxicos e, principalmente, a redução dos riscos ao analista/operador.

Neste escopo, as técnicas de microextração se encaixam com estes princípios, pois o uso de solventes orgânicos tradicionais, como clorofórmio, hexano, entre outros, é reduzido para poucos microlitros, sendo que algumas dessas técnicas podem ser completamente livres do uso desses reagentes. Além de que, mesmo nas técnicas que necessitam usar solventes, há um movimento para a aplicação de solventes alternativos, como os líquidos iônicos (ILs, do inglês ionic liquids) e os solventes eutéticos profundos (DES, do inglês deep eutectic solvents). Estes materiais têm chamado certa atenção devido a possibilidade de produção de materiais para aplicações específicas, com propriedades físico-químicas bastante interessantes, sendo uma delas a pressão de vapor negligenciável, que os tornam solventes mais seguros que os tradicionais.

Além disso, outra tendência é o uso de sistemas automatizados ou semi-automatizados que permitem a redução da manipulação do analista, diminuindo seus riscos de exposição, além de diminuir os erros acarretando em melhorias de reprodutibilidade. Também, há sistemas de extrações simultâneas, como o de 96 poços de amostragem, que permitem o preparo de várias amostras simultaneamente, reduzindo tempo de preparo por amostra, aumentando a frequência analítica, e sendo útil para laboratórios de rotina que lidam com alto fluxo de amostra.

Neste trabalho foi explorado o uso de líquidos iônicos magnéticos (MILs, do inglês magnetic ionic liquids) em técnicas de extração em conjunto com um sistema de extrações simultâneas, o sistema de placas com 96 poços de amostragem. Os MILs são uma subclasse dos ILs, que são sais compostos por cátions e ânions

orgânicos ou inorgânicos, que apresentam susceptibilidade magnética devido a incorporação de um componente paramagnético em sua estrutura. Estes solventes são bastante interessantes devido a possibilidade de recuperação deles utilizando um ímã, o que pode simplificar alguns processos, sendo bastante explorado na literatura em diferentes técnicas e configurações. Porém, estes solventes apresentam algumas limitações ou dificuldades relacionadas à algumas de suas propriedades, por exemplo, a injeção de extratos contendo MIL em sistema de cromatografia líquida, pode gerar um aumento de pressão residual, além de que quando acoplado ao sistema de detecção por UV-Vis, o sinal proveniente desses solventes pode gerar sinal de fundo que dificulta a análise dos analitos. Além disso, a sua alta viscosidade também está relacionada a dificuldades de manipulação, que pode tornar o procedimento tedioso e afetar parâmetros como precisão.

Dessa forma, é de extrema importância que estas dificuldades sejam contornadas a fim de aumentar o uso desses solventes com propriedades tão interessantes. Além disso, a junção das propriedades desses solventes com a capacidade do sistema de 96 poços de amostragem é bastante promissora, pois permitirá melhorar a frequência analítica do método, além de retirar algumas fontes de erros devido a manipulação dos MILs, que seria reduzida com esse sistema. Este trabalho busca trazer estas alternativas para o uso de MILs em técnicas de preparo de amostras em conjunto com sistemas de alta frequência analítica.

O presente trabalho está dividido em seções. Primeiro é apresentada uma revisão da literatura, no item 2, de tópicos relevantes para o trabalho desenvolvido. Em seguida, são apresentados os objetivos do trabalho no item 3. O item 4 apresenta detalhes sobre a síntese dos materiais utilizados, estudos sobre sua formação nas duas amostras utilizadas nos itens 5 e 6, e uma caracterização por espectrometria de massas do material selecionado nos itens 5 e 6. O item 5 apresenta o trabalho de aplicação da técnica de preparo de amostra desenvolvida neste trabalho para análise de contaminantes emergentes em amostras de água. O item 6 apresenta a aplicação desta técnica para a determinação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em amostras de bebidas alcoólicas. Por fim, no item 7 são apresentadas as conclusões e perspectivas sobre os trabalhos desenvolvidos.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 QUÍMICA ANALÍTICA VERDE

A Química Verde e suas vertentes, como a Química Analítica Verde surgiram como guias para o desenvolvimento de práticas mais sustentáveis, com menos impacto ao ambiente e a saúde humana ao reduzir e eliminar a geração de resíduos perigosos. Paul Anastas é considerado o pai da química verde, pois propôs, em 1998, os 12 princípios, que trouxe diretrizes como a redução ou eliminação do uso de reagentes tóxicos, busca de eficiência energética, entre outros. Além disso, ele chama a atenção dos químicos analíticos em 1999 para o desenvolvimento de práticas mais sustentáveis. Como dito por ele, a Química Analítica esteve no centro das questões relacionadas ao meio ambiente, uma vez que através de suas ferramentas é possível determinar substâncias problemáticas no meio ambiente e, portanto, destacando a necessidade do desenvolvimento sustentável (ANASTAS, 1999). Mas, como destacado por Koel (2016), apesar de os laboratórios de análise serem responsáveis pelo levantamento de várias informações químicas sobre diferentes matrizes, eles também são responsáveis por um considerável consumo de energia e reagentes.

Dessa forma, a química analítica verde (GAC, do inglês Green Analytical Chemistry) vem sendo discutida entre os químicos analíticos e diversas estratégias vem sendo propostas a fim de diminuir o impacto de seus procedimentos. Na química analítica, a área de separações e de preparo de amostras são as que este tema é mais debatido, por serem áreas que consomem bastante solventes e energia (ARMENTA *et al.*, 2019; KOEL, 2016). Uma adaptação dos princípios de química verde para a realidade dos métodos analíticos foi proposta por Galuska, Migaszewski e Namiesnik em 2013. Destes pontos, é interessante destacar o aumento da segurança do analista, a preferência por métodos automatizados e miniaturizados, a substituição de reagentes tóxicos e a diminuição do consumo de amostras.

Tendo em vista estes princípios e de acordo com Galuska *et al.* (2012), a análise verde ideal seria realizada com o menor número de etapas possível. Neste caso, metodologias que propõem a análise da amostra no local de amostragem ou que realizam a análise direta, sem necessidade de preparo extenso desta, são consideradas mais verdes. Porém, em muitos casos algumas dessas etapas não podem ser evitadas ou transformadas, sendo necessária a melhor adaptação da

metodologia para garantir bons resultados analíticos e um método com o menor impacto ambiental possível. No caso de amostras mais complexas, por exemplo, uma etapa de preparo de amostras pode ser de extrema necessidade para adequá-la a instrumentação utilizada, assim como eliminar possíveis interferentes e realizar a pré-concentração dos analitos, a fim de garantir uma medida precisa e exata e evitar problemas relacionados a baixa concentração de alguns analitos em amostras (ARMENTA *et al.*, 2019; GAŁUSZKA *et al.*, 2012).

Por conta desse princípio da GAC de análise direta de amostras e a necessidade de etapas de preparo de amostras, López-Lorente e colaboradores (2022) propôs os dez princípios do preparo de amostras verdes (GSP, do inglês green sample preparation). Esses princípios são adaptações da GAC que buscam focar na etapa de preparo de amostras, para não negligenciar e torná-la mais ambientalmente amigável. Dentre os pontos levantados pelos autores ainda se tem o uso de solventes e reagentes mais seguros, o aumento da segurança do analista, a redução de consumo de amostras e reagentes e o desenvolvimento de métodos automatizados. Mas também se destaca outros pontos como o desenvolvimento de métodos de alta frequência analítica e a redução da geração de resíduos (LÓPEZ-LORENTE *et al.*, 2022).

Para fornecer uma métrica, alguns autores propuseram o uso de escalas a fim de quantificar o quão verde é um método. Conforme destacado por Shi *et al.* (2023) essas ferramentas utilizam critérios diferentes e tem suas vantagens e desvantagens. A AGREEprep é um exemplo de escala métrica, ela se baseia nos dez princípios da GSP (WOJNOWSKI *et al.*, 2022), portanto, sendo uma boa opção para avaliação da etapa de preparo de amostras. Além disso, é importante que o método desenvolvido atenda aos parâmetros analíticos necessários para aquela aplicação, por isso é importante a avaliação cuidadosa da etapa de preparo de amostras (TINTROP *et al.*, 2023).

Alguns autores destacam o preparo de amostras como uma das etapas mais críticas do procedimento analítico, tanto do ponto de vista de possibilidade de erros e consumo de tempo (CARASEK; MERIB, 2015), assim como do ponto de vista do impacto ambiental daquele procedimento (ARMENTA *et al.*, 2019). Dessa forma, vem sendo feito vários avanços nessa área para contornar estes problemas, dentre os quais pode-se citar, as contribuições das técnicas de extração miniaturizadas, assim como a substituição de reagentes tóxicos por alternativas mais verdes, sendo possível

destacar o uso de biossorventes como a cortiça e solventes como os líquidos iônicos (ILs) e os solventes eutéticos profundos (DES) (ARMENTA *et al.*, 2019; CARASEK *et al.*, 2019).

2.2 TÉCNICAS DE PREPARO DE AMOSTRAS

Sob o ponto de vista da GAC, o preparo de amostras é uma etapa crítica, responsável por uma das maiores contribuições para a geração de resíduos. Por muitos anos, técnicas de extração tradicionais como a extração líquido-líquido (LLE) e a extração em fase sólida (SPE) foram consideradas procedimentos padrões e muito utilizados, sendo aplicados até hoje. Porém, essas técnicas são caracterizadas por utilizarem uma grande quantidade de materiais, sendo solventes orgânicos tóxicos no caso da LLE e cartuchos de uso único da SPE, gerando muito resíduo, além de serem procedimentos constituídos de várias etapas e bastante laboriosos (CARASEK; MORÉS; MERIB, 2018; MACIEL *et al.*, 2019). Desta maneira, as técnicas de microextração surgem como soluções mais verdes com vantagens como aumento das taxas de extração, diminuição do tempo de extração e melhorias de reprodutibilidade (ARMENTA *et al.*, 2019; BURATO *et al.*, 2020).

A miniaturização é somente uma das muitas estratégias que buscam deixar o preparo de amostras mais ambientalmente amigável, outras que podem ser destacadas são a automatização e a substituição de materiais comumente utilizados e perigosos por alternativas mais verdes como os ILs, DES e biossorventes (ARMENTA *et al.*, 2019; BURATO *et al.*, 2020; CARASEK *et al.*, 2019). Como destacado por Armenta *et al.* (2019), esses artifícios podem ajudar a reduzir a geração de resíduos e consumo de amostras e reagentes, além de aumentar a segurança do analista. O desenvolvimento de novas estratégias de preparo de amostras também busca procedimentos mais simples e seguros, evitando o uso de muitas etapas que podem significar um aumento do erro sistemático (relacionado a falhas na execução do método) (CARASEK *et al.*, 2021; CARASEK; MERIB, 2015).

A história das técnicas de microextração começa com o desenvolvimento da microextração em fase sólida (SPME) em 1990 por Pawliszyn e colaboradores. Ela surge como uma alternativa a SPE e utiliza os mesmos princípios desta, porém busca reduzir a geração de resíduos ao contornar problemas como o uso de grandes volumes de solventes orgânicos e cartuchos de uso único, assim como simplificar o

procedimento ao buscar redução das etapas de extração (MACIEL et al., 2019). Desde então, diversas configurações baseadas nos princípios da SPE e SPME foram propostas como microextração em barra sortiva (BA μ E), extração sortiva em barra de agitação (SBSE) e extração dispersiva em fase sólida (dSPE) (BURATO et al., 2020). Da mesma forma, inovações vêm sendo feitas para extração em fase líquida e as primeiras alternativas miniaturizadas foram propostas em 1995 e hoje há três modos principais, a microextração em gota única (SDME), a microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME), a microextração em fase líquida em fibra oca (HF-LPME), entre outras (BURATO et al., 2020).

Neste trabalho, foi explorado o uso dos solventes alternativos, os líquidos iônicos magnéticos (MILs), portanto, foi investigado com mais detalhes as técnicas de microextração em fase líquida, por usarem fases extratoras neste conceito. As técnicas de microextração em fase líquida (LPME) são configurações que se baseiam na LLE, sendo caracterizadas pelo uso de microlitros de solvente orgânico, portanto, representam um ganho grande frente a química analítica verde pela redução no consumo de reagentes potencialmente tóxicos. Além disso, há também ganhos significativos pela redução do consumo de amostra, ademais essa redução se reflete também em uma menor geração de resíduos, se encaixando em um dos princípios do preparo de amostras verde (BIRK et al., 2021; BURATO et al., 2020; CARASEK; MORÉS; MERIB, 2018; KANU, 2021). Diferentes formatos e estratégias vêm sendo exploradas a fim de simplificar os procedimentos, aumentar a sensibilidade, melhorar parâmetros analíticos e aumentar a gama de analitos que podem ser extraídos (BURATO et al., 2020).

As técnicas de microextração se baseiam em equilíbrios de partição do analito na amostra e na fase extratora e seu desempenho depende de fatores experimentais ligados a cinética e ao equilíbrio desta partição (BURATO et al., 2020; CARASEK; MORÉS; MERIB, 2018). Portanto, a seleção adequada da fase extratora e das outras condições experimentais como pH e força iônica devem ser avaliadas, podendo variar os tipos de otimizações utilizados dependendo da técnica selecionada, dos analitos e da matriz de estudo.

No caso da LPME, este equilíbrio se dá entre duas fases líquidas, sendo que geralmente se utiliza uma amostra aquosa e como fase extratora um solvente orgânico hidrofóbico, a fim de garantir a separação de fases. Dessa forma, uma propriedade como o coeficiente de partição octanol/água ($\log K_{ow}$) pode ser usada como referência

para a constante de equilíbrio de uma determinada combinação entre amostra e fase orgânica, e pode ser usada para verificar a afinidade do analito por uma dessas fases (BURATO et al., 2020). Quanto maior for o valor de $\log K_{ow}$ para um determinado analito, mais hidrofóbico ele é, maior a sua afinidade pela fase orgânica e, portanto, melhores eficiências de extração são esperadas. Já o contrário exigiria que outras estratégias fossem realizadas a fim de garantir a extração dos analitos eficientemente, como por exemplo, o uso de sais a fim de provocar o efeito *salting out*, onde a solubilidade do analito na fase aquosa é diminuída com a adição de sal, ou ajustes de pH podem ser necessários, para analitos ionizáveis, a fim de garantir que estejam na sua forma neutra e interajam melhor com a fase extratora (BURATO et al., 2020; MERIB et al., 2018; TANG et al., 2018).

Outra questão envolvendo a LPME está relacionada ao seu alto fator de enriquecimento, que pode ser explicado com a equação a seguir (BURATO et al., 2020):

$$C_{oeq} = k \times C_{aeq} = \frac{k \times C_{a0}}{(1+k \times (V_o/V_a))} \quad (\text{Equação 1})$$

Sendo:

C_{oeq} : concentração do analito na fase orgânica no equilíbrio;

k : constante de distribuição;

C_{aeq} : concentração do analito na fase aquosa no equilíbrio;

C_{a0} : concentração inicial do analito na fase aquosa;

V_o : volume de fase orgânica;

V_a : volume de fase aquosa.

Como pode-se ver na Equação 1, a concentração do analito na fase orgânica no equilíbrio é inversamente proporcional ao volume de fase orgânica, e quanto menor for a fração volume de fase orgânica e volume de fase aquosa (V_o/V_a) maiores serão os fatores de enriquecimento (BURATO et al., 2020). Esta condição é esperada de técnicas que usam a LPME, uma vez que são caracterizadas apenas pelo uso de microlitros de solvente orgânico.

Além disso, uma variável bastante importante para a garantia de resultados confiáveis é o tempo de extração, que no caso da LPME pode ser influenciado por

diferentes fatores. Um deles é a área interfacial da fase extratora, que em técnicas como a DLLME que promovem a formação de várias gotículas do solvente dispersas em solução, aumentando sua área superficial, já vem sendo melhoradas a fim de diminuir os tempos de extração. Além disso, viscosidade e temperatura das soluções usadas são características importantes, pois estão relacionadas à taxa de difusão das moléculas e, portanto, são fatores que podem afetar as técnicas de formas diferentes. A agitação pode ser uma ferramenta para diminuir a camada estática entre as fases, e assim diminuir os tempos de extração e aumentar a taxa de transferência de massa, sendo utilizados diferentes modos como a agitação magnética, vibração mecânica, assistida por ultrassom, entre outros (BURATO et al., 2020).

Assim, como para outras estratégias de microextração, a seleção adequada da fase extratora, portanto, do solvente, é um dos pontos críticos para a obtenção de bons resultados na LPME. A escolha deve ser baseada nas suas características físico-químicas, possíveis interações com o analito e fatores econômicos e ambientais. Dentre as propriedades físico-químicas pode-se citar, pontos de fusão e ebulição, densidade, coeficiente de partição octanol/água, viscosidade e tensão superficial (KOKOSA, 2019). A significância dessas propriedades físico-químicas para a eficiência de extração pode variar de acordo com o analito e a técnica selecionada. A LPME pode ser dividida em três categorias principais: a SDME, DLLME e a HF-LPME (BIRK et al., 2021; KOKOSA, 2019; PENG; CAO, 2021). Um solvente ideal para a SDME pode não ser para a DLLME e vice-versa, isso porque cada uma dessas técnicas apresenta suas peculiaridades e características que serão destacadas posteriormente.

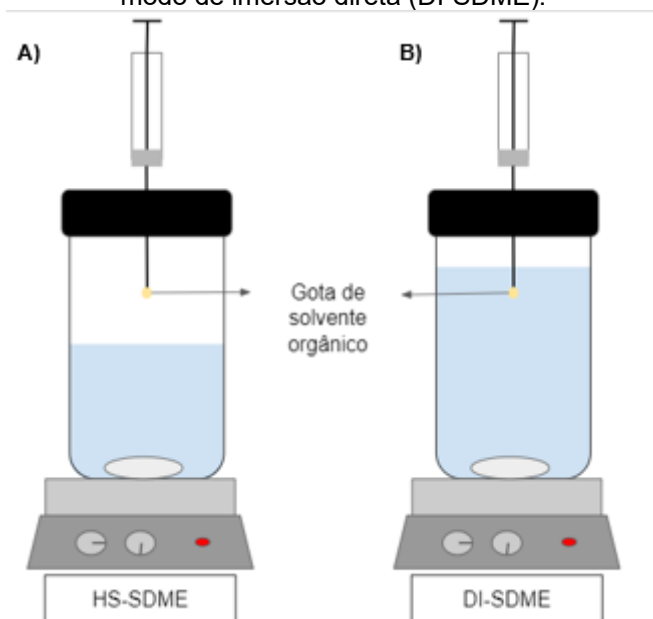
Além disso, nos itens a seguir, também serão destacadas outras duas estratégias exploradas em técnicas de microextração, o uso de materiais extratores alternativos como os ILs, DES e solventes supramoleculares. Também será discutido sobre o uso de sistemas de extrações paralelas, como o sistema de placas de 96 poços de amostragem e seus ganhos para o preparo de amostras e o procedimento analítico como um todo.

2.2.1 Microextração em gota única (SDME)

A SDME foi introduzida na metade de 1990 com os trabalhos de Liu e Dasgupta (1995) e Jeannot e Cantwell (1996) como uma solução às limitações

encontradas com outros métodos como LLE, SPE e SPME. O procedimento consiste em uma gota de solvente orgânico suspensa na ponta de uma seringa que é exposta na amostra de forma direta (DI-SDME) apresentado na Figura 1B, ou no headspace (HS-SDME), como visto na Figura 1A, o analito é dissolvido nessa gota, que após determinado tempo é recolhida e analisada (KAILASA et al., 2021; KOKOSA, 2013; SARAFRAZ-YAZDI; AMIRI, 2010; SPIETELUN et al., 2014).

Figura 1. Modos de extração da SDME. Em A) modo realizado no headspace (HS-SDME) e em B) modo de imersão direta (DI-SDME).



Fonte: Adaptado de Carasek, Morés e Merib, 2018.

Além dessas configurações apresentadas na Figura 1, outras foram propostas na literatura e são destacadas por Tang et al. (2018), mas não serão tratadas neste trabalho. Os solventes usados nessa técnica devem apresentar compatibilidade com o sistema de análise e para análises cromatográficas, geralmente é utilizado 1-octanol, n-hexano, dodecano e tolueno (CARASEK; MORÉS; MERIB, 2018). Entretanto, uma das tendências em preparo de amostra é a substituição de solventes tradicionais, por alternativas como os ILs e DES, que são considerados mais verdes e podem estar relacionados a ganhos de seletividade, entre outros parâmetros analíticos e operacionais, por isso há na literatura várias aplicações deles em conjunto com a SDME (KAILASA et al., 2021).

Essa técnica ganha destaque devido a simplicidade operacional, uma vez que não necessita de aparatos sofisticados, e a fase extratora é renovada após cada

extração evitando efeitos de memórias, mas como uma de suas maiores limitações tem-se a instabilidade da gota (KOKOSA, 2013; TANG et al., 2018; YAMINI; REZAZADEH; SEIDI, 2019). A fim de contornar essa limitação, diferentes estratégias já foram propostas como o uso de agulhas com diferentes pontas (SPIETELUN et al., 2014), uso de solventes alternativos que tenham maior estabilidade que os solventes orgânicos tradicionais, entre outros (KAILASA et al., 2021; KOKOSA, 2019). Mas, alguns parâmetros experimentais são essenciais para a garantia dessa estabilidade. Os fatores operacionais que podem ser avaliados são volume de gota e tipo de solvente utilizado, força iônica e pH da amostra, temperatura, taxa de agitação e tempo de extração (KAILASA et al., 2021; TANG et al., 2018).

O volume da gota é um dos parâmetros que afetam a estabilidade da gota, o uso de volumes maiores pode ser vantajoso para aumentar a quantidade de analito extraído, mas isso pode levar a diluição e a instabilidade da gota, podendo perdê-la durante o processo de extração. Além disso, outros dois fatores são bastante significativos para essa limitação: a agitação e o tempo de extração. A agitação pode ser bastante interessante por aumentar a taxa de difusão dos analitos levando a necessidade de menores tempos de extração, porém no caso da DI-SDME, isso é mais crítico uma vez que o aumento da agitação pode levar à perda da gota. Já com relação ao tempo de extração, o uso de maiores tempos pode levar a uma maior quantidade de analito extraído, porém, quando tempos muito longos são usados há riscos de instabilidade da gota e do fenômeno de re-extração, quando o analito é “extraído” novamente para a amostra, ou seja, é vista uma diminuição na eficiência de extração. Dessa forma, esses parâmetros devem ser cuidadosamente selecionados (KAILASA et al., 2021; TANG et al., 2018).

Além disso, a seleção do solvente utilizado também é bastante importante para garantir resultados confiáveis e eficientes. Como destacado por Kokosa (2019), quando um solvente está sendo selecionado é preciso avaliar suas propriedades físico-químicas e suas possíveis interações com o analito. No caso da SDME, as propriedades físico-químicas do solvente selecionado vão afetar a estabilidade da gota. No caso da DI-SDME, é essencial que o solvente seja insolúvel na amostra, algo que não é tão necessário para a HS-SDME. Isso se reflete, por exemplo, que quando amostras aquosas são usadas, é possível usar água como solvente na HS-SDME o que amplia a gama de analitos extraíveis, podendo ser voláteis e solúveis em água (polares), algo que não é possível na DI-SDME (KOKOSA, 2013). Mas no caso da

HS-SDME, especialmente, é importante que a fase utilizada não seja volátil, para não ser perdida durante a extração e levar a possíveis erros. Além disso, uma característica bastante interessante é a viscosidade da gota, que pode auxiliar na sua estabilidade (TANG et al., 2018). Por isso, solventes alternativos vêm ganhando espaço, por trazerem soluções a esses problemas, os ILs e DES são destacados como solventes de propriedades físico-químicas relevantes como pressão de vapor desprezível e o seu potencial de produção de materiais específicos para determinadas tarefas (KAILASA et al., 2021).

Apesar de que esses fatores devem ser cuidadosamente avaliados a fim de garantir bons resultados, outros não podem ser esquecidos a fim de assegurar esses resultados. Dentre eles se pode citar o ajuste de força iônica e pH da amostra, que são fatores ligados, geralmente, aos analitos. O pH da amostra influencia a forma que os analitos ionizáveis se encontram e, portanto, afeta sua interação com a amostra e a fase extratora. Já o ajuste de força iônica pode ser uma ferramenta útil para tratar de analitos com alta solubilidade na amostra, uma vez que a adição de sal pode levar ao efeito *salting-out*, que está relacionado a diminuição da solubilidade do analito em solução aquosa com o aumento da concentração de sal. Mas esta ferramenta deve ser usada com cuidado, pois o aumento da força iônica da solução da amostra pode levar ao aumento da viscosidade da solução e, portanto, à redução da taxa de difusão. Além desses, outro parâmetro que também pode ser otimizado é a temperatura usada na extração, uma vez que ela está relacionada ao aumento na taxa de difusão dos analitos, porém, o aumento da temperatura pode levar a perdas do solvente por evaporação e ao processo de re-extração, perdendo assim, reprodutibilidade e eficiência de extração (TANG et al., 2018). Dessa forma, é sempre importante no desenvolvimento do método que condições compromisso sejam estabelecidas para garantir que resultados confiáveis sejam obtidos.

A SDME vem sendo aplicada para extração de diferentes analitos, sejam eles, espécies inorgânicas ou orgânicas, e até há relatos do seu uso para a extração de biomoléculas (KAILASA et al., 2021), o que mostra sua versatilidade e potencialidade. Os artigos de revisão de Kailasa et al. (2021) e Tang et al. (2018) reportam diversas aplicações com solventes alternativos como ILs, DES e solventes supramoleculares. Tang et al. (2018) também traz algumas aplicações de sistemas completamente automatizados para a realização dessa técnica, porém, também destaca a dificuldade dessa combinação devido à instabilidade da gota. Recentemente, o uso de líquidos

iônicos magnéticos (MILs) vem sendo proposto como forma de resolver esse problema ao adaptar ímãs no lugar das seringas e usar a estabilidade proporcionada pela atração magnética. Além disso, foi proposto o uso do sistema do 96-well plate em conjunto com essa estratégia, a fim de propor uma forma de aumentar a frequência analítica dessa técnica e, apesar de os trabalhos propostos na literatura não usarem sistemas completamente automatizados, comentam essa possibilidade para essa técnica de difícil automação (MAFRA et al., 2019, 2021). Kailasa et al. (2021) também destaca a necessidade de desenvolvimento de sistemas de análise on-site ou no local de amostragem. Ambos os trabalhos destacam ainda o espaço de possibilidades para novos desenvolvimentos usando essa técnica.

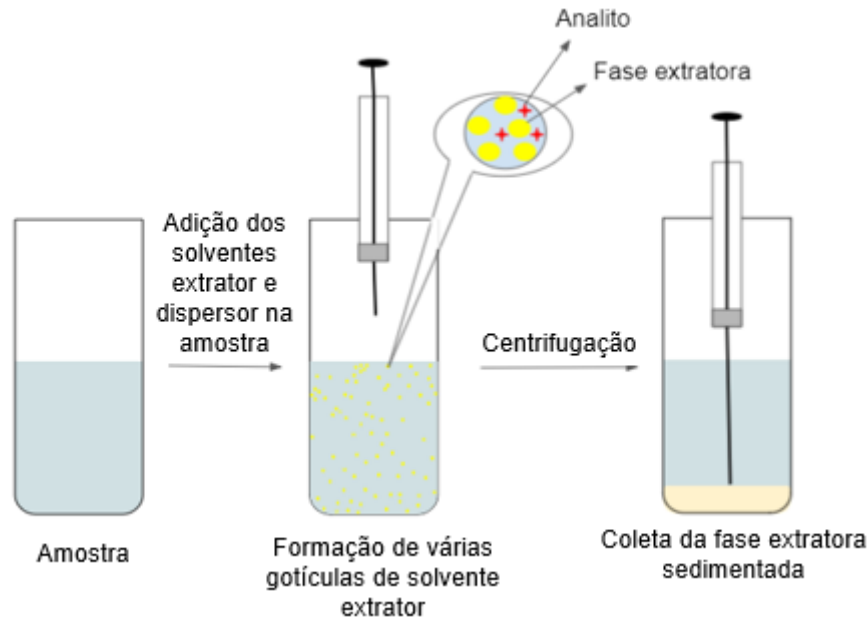
2.2.2 Microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME)

A fim de resolver problemas relacionados à taxa de difusão vistos na SDME, além de outras limitações encontradas em outras técnicas, a DLLME foi introduzida em 2006 por Rezaee e colaboradores. Esta técnica é baseada em um sistema de solventes ternários, em que o solvente extrator é disperso na solução em várias gotículas, aumentando a área superficial da fase extratora e, conseqüentemente, a taxa de transferência de massa da amostra à fase, dessa forma, o equilíbrio é rapidamente alcançado, sendo que alguns autores relatam que o equilíbrio é alcançado quase que instantaneamente (DMITRIENKO et al., 2020; HAVLIKOVA et al., 2019; PENA-PEREIRA et al., 2021).

O sistema é baseado em um solvente extrator, dispersor e amostra. Inicialmente foi proposto o uso de solventes mais densos que a água como solvente extrator, podendo citar como exemplo o clorofórmio. O solvente extrator utilizado deveria ser imiscível em água, a amostra, e miscível no solvente dispersor, que por sua vez é responsável por dispersar essa fase na amostra e é miscível em ambas as fases, sendo que os mais usados são o metanol e acetonitrila. No procedimento experimental, como visto na Figura 2, uma mistura contendo o solvente extrator e dispersor é rapidamente injetado na amostra com o auxílio de uma seringa formando uma solução nuvem, devido a formação de várias gotículas do solvente extrator dispersas na amostra, e em seguida a fase extratora é separada e analisada. No caso da DLLME originalmente proposta, uma etapa de centrifugação é necessária para isso

(DMITRIENKO et al., 2020; HAVLIKOVA et al., 2019; MOUSAVI; TAMIMI; KHOSHAYAND, 2018; PENA-PEREIRA et al., 2021).

Figura 2. Procedimento convencional da DLLME.



Fonte: Adaptado de Martins et al., 2012.

Durante os anos, diversas inovações foram propostas a fim de contornar problemas como o uso de solventes orgânicos tóxicos, que apesar de em pequena quantidade, ainda representam um risco ao ambiente e ao analista, substituindo-os por alternativas mais verdes e a modificação de etapas, a fim de simplificá-las e reduzir seu impacto ambiental, como a substituição da etapa de separação de fases e a troca ou eliminação do solvente dispersor. No caso da substituição das fases extratoras, há diversas alternativas como o uso de solventes menos densos que a água, como hexano, undecanol, dodecanol, entre outros (DMITRIENKO et al., 2020). Também surgiu uma alternativa conhecida como DLLME com solidificação da gota orgânica flutuante (DLLME-SFOD), em que é realizada um controle de temperatura, que auxilia a extração e a separação de fases. Nesse caso, é utilizado um solvente que possua temperatura de fusão próxima à temperatura ambiente, como por exemplo 1-dodecanol, possibilitando a extração em uma temperatura que esse solvente está líquido e depois a temperatura é ajustada para congelamento do extrato e sua coleta (DMITRIENKO et al., 2020; PENA-PEREIRA et al., 2021).

Também há outros modos utilizando solventes alternativos, como os ILs, DES e SUPRAS, em que há diversas aplicações e inovações. No caso dos ILs, pode-se

citar o uso de controle de temperatura para ajustar sua solubilidade na amostra, a eliminação dos solventes dispersores e o uso de ILs magnéticos (MILs) que facilitam a etapa de separação de fases, ao evitar a centrifugação (PENA-PEREIRA et al., 2021). Alternativas como o uso de controle de temperatura e de agitação e formação das gotículas, em que se pode citar o uso de ultrassom, micro-ondas e vortex podem ser úteis para reduzir ou eliminar solventes dispersores. Esses artifícios podem apresentar outras vantagens e desvantagens, como a diminuição do tempo de extração, mas, em contrapartida, há a dificuldade de automação deste tipo de sistema. Existem outras vertentes como a do solvente extrator formado durante a extração, a chamada formação de solvente *in situ* e o uso de reações efervescentes. Também é possível explorar o uso de surfactantes a fim de promover a formação da emulsão e do efeito *salting out* para promover a separação de fases (HAVLIKOVA et al., 2019; PENA-PEREIRA et al., 2021).

A DLLME e suas várias vertentes e inovações são destacadas como uma técnica bastante interessante, simples, rápida e com altos fatores de enriquecimento (HAVLIKOVA et al., 2019; SARAFRAZ-YAZDI; AMIRI, 2010). Dentre suas aplicações há a análise de analitos orgânicos e inorgânicos e de diferentes amostras, incluindo amostras não aquosas, sendo necessário nesse caso selecionar um solvente extrator adequado. Além disso, há aplicações de sistemas automatizados para a realização da DLLME, porém como destacado por Alexovic et al. (2017), existem alguns desafios para a implantação desses sistemas.

2.3 APLICAÇÕES DO USO DO SISTEMA DE 96-WELL PLATE PARA EXTRAÇÕES PARALELAS EM PREPARO DE AMOSTRAS

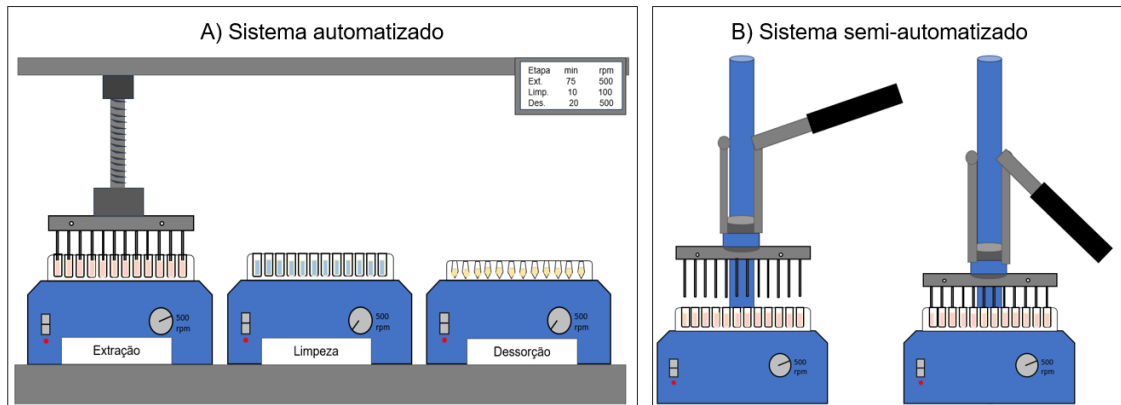
Atualmente uma das tendências em preparo de amostra é a automatização dos procedimentos analíticos. Essa tendência também é um dos princípios destacados pela GAC para um método analítico verde. A automatização apresenta diversas vantagens, dentre elas a diminuição de erros devido ao manuseio humano, redução no consumo de amostra e reagentes, melhoras de parâmetros analíticos como precisão e sensibilidade. Além disso, ela vem como uma ferramenta praticamente necessária para laboratórios de rotina que tem de lidar com várias amostras, uma vez que procedimentos com manipulação humana constante se tornam impraticáveis devido à baixa reprodutibilidade e ao fato de serem

procedimentos tediosos e que consomem muito tempo do analista (KOCÚROVÁ; BALOGH; ANDRUCH, 2013; RUTKOWSKA et al., 2019).

Ao se tratar de procedimentos de extração líquido-líquido, dentre uma das muitas vantagens da automatização, terá o aumento da segurança do analista, uma vez que ele deixa de ser exposto a solventes e amostras que podem ser potencialmente tóxicas (MAYA et al., 2014). O aumento da segurança do analista também é considerado um dos princípios da GAC, mostrando mais pontos positivos da automatização de procedimentos analíticos.

Os sistemas de microplacas ou multi-poços, vem surgindo como uma ferramenta bastante interessante para automação ou semi-automação dos métodos de preparo de amostras, uma vez que são compatíveis com sistemas de braços robóticos permitindo a completa automação dos processos (BIDDLECOMBE; BENEVIDES; PLEASANCE, 2001), sendo possível encontrar sistemas completamente automatizados, Figura 3.A, e semiautomatizados, Figura 3.B (DO CARMO; MERIB; CARASEK, 2019). Exemplos dessas duas formas são apresentadas na Figura 3. Além disso, uma das grandes vantagens desse sistema é o ganho em frequência analítica, uma vez que várias amostras podem ser processadas paralelamente. Os sistemas de 96 poços de amostragem permitem o preparo simultâneo de até 96 amostras, mas existem outras placas com 384 e 1536 poços que podem aumentar ainda mais o potencial desses sistemas (HUTCHINSON; SETKOVA; PAWLISZYN, 2007; PŁOTKA-WASYLKA et al., 2016). Eles vêm chamando muita atenção devido a possibilidade de diminuição do tempo de preparo de amostra, um dos fatores críticos para o tempo total de análise, além de que permitem uma menor manipulação humana, podendo representar ganhos de reprodutibilidade devido à redução de erros humanos (BIDDLECOMBE; BENEVIDES; PLEASANCE, 2001; KIRSCHNER et al., 2017; MAFRA et al., 2020).

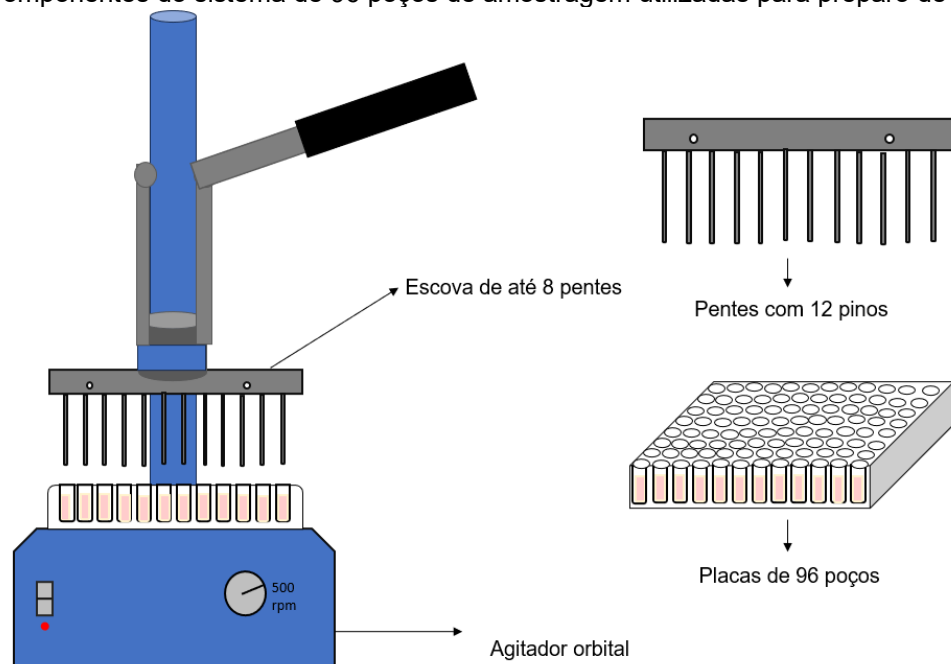
Figura 3 . Sistemas de 96 poços de amostragem para preparo de amostras, sendo (A) sistema completamente automatizado e (B) sistema semi-automatizado.



Fonte: Adaptado de Carmo *et al.*, 2019 e Boyaci *et al.*, 2014.

Este aparato, apresentado na Figura 4, é composto por uma placa com 96 onde pode-se adicionar um volume variável tanto de amostra quanto de solvente, sendo que, em geral, são utilizados poços de capacidade pequena, e a maioria dos trabalhos utiliza volumes próximo a 1 mL de amostra. Para adaptação da fase extratora, no caso de combinação com técnicas de preparo de amostra, são utilizados, geralmente, os pinos dos pentes. O sistema é constituído de uma escova de 8 pentes com 12 pinos cada (totalizando 96 pinos), que também podem ser vistos na Figura 4.

Figura 4. Componentes do sistema de 96 poços de amostragem utilizadas para preparo de amostras.



Fonte: Adaptado de Lopes *et al.*, 2018.

Essa combinação começou em 1996, quando foi proposto o uso de 96 poços de amostragem com a SPE para a extração de drogas e metabólitos de fluidos biológicos (KAYE et al., 1996). Desde então vem sendo explorado em diferentes configurações e diferentes técnicas de extração, sendo aplicada inclusive em técnicas consideradas de difícil automação como a LLE (BIDDLECOMBE; BENEVIDES; PLEASANCE, 2001; MIRNAGHI et al., 2011). O seu uso em técnicas miniaturizadas de preparo de amostra teve início com o trabalho de Hutchinson e colaboradores (2007) que propuseram uma adaptação de fibras de SPME a um pente de 96, e neste trabalho, diferentes construções desses pentes foram testadas. A fim de testar alguns parâmetros desse sistema, foi feita a extração de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) de soluções padrões e com isso, os autores puderam demonstrar a acurácia do sistema desenvolvido. Devido a seu bom desempenho e grandes vantagens, essa combinação foi e vem sendo muito explorada em diferentes configurações para o preparo de amostra, como se pode ver na Tabela 1.

Tabela 1. O uso do sistema de 96-well plate no preparo de amostras.

Técnica de preparo de amostra	Analitos	Amostra	Instrumentação	Fase extratora	Tempo de preparo de amostra total (min)	Tempo de preparo por amostra (min)*	Ref.
SPME	HPAs	Soluções padrão	-	PDMS	60	0,63	(HUTCHINSON; SETKOVA; PAWLISZYN, 2007).
SPME	Drogas	Sangue	LC-MS/MS	C18- ligado sílica/PEG	2 ^a		(ZHANG et al., 2007)
SPME	Ocratoxina A	Urina	LC-MS/MS	Carbon-tape	75	0,78	(VATINNO et al., 2008)
SPME	Drogas	Sangue	LC-MS/MS	PDMS, C18 e RPA	60	0,63	(VUCKOVIC et al., 2008)
TF-SPME	Benzodiazepínicos	Urina	HPLC-MS/MS	C18	55	0,57	(CUDJOE et al., 2009)
In-tip SPME	Drogas	Plasma humano	HPLC-MS/MS	PDMS-DVB	40	0,42	(XIE et al., 2009)
SPME	Diazepam	Solução tampão PBS	HPLC-MS/MS	RPA	60 ^b	0,63	(VUCKOVIC; PAWLISZYN, 2009)
LLE	Vitamina D3	Soro humano	HPLC-MS/MS	MTBE	180	1,88	(XIE et al., 2011)
In-tip SPME	Vitamina D3	Soro humano	HPLC-MS/MS	Material polimérico sintetizado	120	1,25	(XIE et al., 2011)
SPME	Benzodiazepínicos	Plasma humano e solução tampão	LC-MS/MS	C18-PAN	160	1,67	(MIRNAGHI et al., 2011)
TF-SPME	Benzodiazepínicos	Plasma e solução tampão	LC-MS/MS	C18-silica glass	140	1,46	(MIRNAGHI; MONTON; PAWLISZYN, 2012)
SPME	Pesticidas	Pepino	GC-MS	PDMS	45	0,47	(BAGHERI et al., 2012)

Tabela 1. O uso do sistema de 96-well plate no preparo de amostras. (Continuação)

Técnica de preparo de amostra	Analitos	Amostra	Instrumentação	Fase extratora	Tempo de preparo de amostra total (min)	Tempo de preparo por amostra (min)*	Ref.
TF-SPME	Fármacos	Esgoto	LC-ESI-MS/MS	C18	130	1,35	(TOGUNDE et al., 2012)
PALME	Drogas	Plasma	LC-MS/MS	Dihexil éter e solução aquosa de ácido fórmico	30	0,31	(GJELSTAD et al., 2013)
TF-SPME	Compostos de doping	Urina	LC-MS	C18	135	1,41	(BOYACI et al., 2014)
HF-LLME	Drogas	Água, urina e plasma	HPLC-UV	Octanol	120	1,25	(BORIJIHAN et al., 2014)
TF-SPME	Drogas	Plasma	LC-MS/MS	WCX	25	0,26	(GORYNSKI et al., 2014)
HFM-SME	Drogas	Solução aquosa	HPLC-UV	Octanol	300 ^h	5	(BAO et al., 2014)
Pa-EME	Drogas	Água, plasma e urina	CE-UV, FIA-MS e UHPLC-MS	Solução aquosa de ácido fórmico	10	0,10	(EIBAK et al., 2014)
μ-SPE	Vitamina D	Soro humano	LC-MS/MS	-	-	-	(GEIB et al., 2015)
μ-SPE	Pesticidas	Maçã	GC-MS	Polímero monolítico	- ^c	-	(BAGHERI et al., 2016)
HF-LPME	Esteroides	Plasma, leite e urina	HPLC-MS/MS	Octanol: tolueno	50	0,52	(LUO; LI; BAO, 2016)
TF-SPME	B-bloqueadores e broncodilatadores	Plasma e urina	LC-MS/MS	HLB	95	1	(GORYŃSKI; KIEDROWICZ; BOJKO, 2016)
PALME	Novas substâncias psicoativas	Plasma e sangue	LC-MS/MS	solução aquosa de ácido fórmico	120	1,25	(VÅRDAL et al., 2017)
PALME	Drogas	Plasma humano	LC-MS	solução aquosa de TFA	45	0,47	(PILAŘOVÁ et al., 2017)

Tabela 1. O uso do sistema de 96-well plate no preparo de amostras. (Continuação)

Técnica de preparo de amostra	Analitos	Amostra	Instrumentação	Fase extratora	Tempo de preparo de amostra total (min)	Tempo de preparo por amostra (min)*	Ref.
SPME	Drogas e fármacos	Urina e plasma	MS	HLB-PAN	15	0,15	(TASCON et al., 2017)
TF-SPME	Contaminantes emergentes	Água	HPLC-DAD	Terra diatomácea	270	2,81	(KIRSCHNER et al., 2017)
Pa-EME	Drogas	Plasma	CE-UV	Solução aquosa de ácido fórmico	20	0,21	(DROUIN et al., 2017)
μ-SPE	Drogas	Esgoto	UHPLC-MS/MS	Oasis HLB	-	-	(BAZ-LOMBA et al., 2018)
TF-SPME	Contaminantes emergentes	Água	HPLC-DAD	Cortiça	200	2,08	(MORÉS; DIAS; CARASEK, 2018)
μ-SPE	eluxadolina	Plasma	UPLC-MS/MS	Oasis MCX	-	-	(IQBAL et al., 2018)
PALME	Fármacos	Manchas de sangue seco	UHPLC-MS/MS	solução aquosa de ácido fórmico e solução aquosa de amônia	60	0,63	(ASK et al., 2018)
μ-SPE	Isoprostane 8-iso-PGF2α	Plasma de ovelha e cabra	UPLC/MS/MS	Oasis®MAX	-	-	(PATIÑO et al., 2018)
HS-SPME	Odorantes	Uva	DART-MS	PDMS	30	1,25 ^d	(BEE et al., 2018)
HFRLM	Disruptores endócrinos	Água	HPLC-DAD/FLD	Octanol:hexano	55	0,57	(LOPES et al., 2018)
TF-SPME	Antibióticos	Ração animal	UHPLC-MS/MS	PS-DVB-PAN	85 ^e	0,88	(QIAN et al., 2019)
μ-SPE	Fluoroquinolonas	Alimentos de origem animal	UPLC-MS/MS	sulfonated-PANI/PAN NFMs	- ^f	0,2	(JIAN et al., 2019)
μ-SPE	Triptorrelina	Plasma de rato	LC-MS ³	Oasis® HLB	-	-	(REN et al., 2019)

Tabela 1. O uso do sistema de 96-well plate no preparo de amostras. (Continuação)

Técnica de preparo de amostra	Análitos	Amostra	Instrumentação	Fase extratora	Tempo de preparo de amostra total (min)	Tempo de preparo por amostra (min)*	Ref.
SPME	Esteróides	Plasma humano	LC-MS	LAY-FOMM60	150	1,56	(BELKA et al., 2019)
PALME	Fármacos	Plasma humano	LC-MS/MS	Triocetilamina em acetato de dodecila e solução aquosa de ácido fórmico	60	0,63	(ASK et al., 2019)
TF-SPME	Disruptores endócrinos	Água	HPLC-FLD	HIS-MNP	80	0,83	(LOPES et al., 2019)
TF-SPME	Hormônios	Urina	HPLC-FLD	Bráctea	170	1,77	(DO CARMO; MERIB; CARASEK, 2019)
Pa-SDME	Parabenos, BPA, benzofenona e triclocarban	Água	HPLC-DAD	[P _{6,6,6,14} ⁺] ₂ [MnCl ₄ ²⁻]	90	0,94	(MAFRA et al., 2019)
HFRLM	Cocaína e seus metabólitos	Urina	LC-QTOF-MS	Hexano, diclorometano e acetato de etila	65	0,68	(MAFRA et al., 2020)
MIHF-SPME	Doxorrubicina	Água e urina		TiO ₂ /HAP/PVA hollow fiber	50	0,52	(RAHMANI et al., 2020)
HF-MMLLE	Contaminantes emergentes	Água	HPLC-DAD	Timol:canfora	75	0,78	(MORELLI et al., 2020)
TF-SPME	Contaminantes emergentes	Água	NIR	Terra diatomácea	270	2,81	(VALDERRAMA et al., 2020)
TF-SPME	Fungicidas	Uva e suco de uva	LC-MS/MS	PS-DVB-PAN	120	1,25	(ZHANG et al., 2020b)

Tabela 1. O uso do sistema de 96-well plate no preparo de amostras. (Continuação)

Técnica de preparo de amostra	Analitos	Amostra	Instrumentação	Fase extratora	Tempo de preparo de amostra total (min)	Tempo de preparo por amostra (min)*	Ref.
SPME	Fármacos	Tecido bovino	DART-MS/MS	HLB-PAN	45 ^g	0,47	(KHALED; BELINATO; PAWLISZYN, 2020)
Pa-SDME	Pesticidas	Urina	HPLC-DAD	[P _{6,6,6,14} ⁺] ₂ [MnCl ₄ ²⁻]	130	1,35	(MAFRA et al., 2021)
TF-SPME	Metabólitos de retardadores de chama organofosforados	Urina	UPLC-MS/MS	HLB-WAX	93	0,97	(JING et al., 2021)
TF-SPME	Macrolidas e lincosamidas	Mel	UPLC-MS/MS	ZIF-8@GO	50	0,52	(ZHANG et al., 2021)
TF-SPME	Ácido tranexâmico	Plasma e urina	LC-MS/MS	HLB e PAN	15	0,16	(LOOBY et al., 2021)
SPME	Drogas	Plasma	LC-MS/MS	C18/PAN	30 - 60	0,31 – 0,63	(ROY et al., 2021)
Pa-EME	Drogas	Plasma de rato	UHPLC-MS/MS	Solução aquosa de ácido acético	25	0,26	(PISKÁČKOVÁ et al., 2021)
Pa-EME	Drogas e seus metabólitos	Organoides do fígado	UHPLC-MS	Solução aquosa de formato de amônio	15	0,16	(SKOTTVOLL et al., 2021)
TF-SPME	Hormônios	Urina	HPLC-FLD	Polianilina-sílica dopada com ácido oxálico	170	1,77	(TURAZZI et al., [s.d.])
HF-MMLLE	Disruptores endócrinos	Urina	HPLC-DAD	1-octanol	100	1,04	(PIERRI et al., 2022)
HF-MMLLE	Hormônios	Urina	HPLC-FLD	1-octanol	55	0,57	(LOPES et al., 2022)

Tabela 1. O uso do sistema de 96-well plate no preparo de amostras. (Continuação)

Técnica de preparo de amostra	Analitos	Amostra	Instrumentação	Fase extratora	Tempo de preparo de amostra total (min)	Tempo de preparo por amostra (min)*	Ref.
TF-SPME	Multiresíduo	Fluído oral	LC-MS	Polyamide 6, LAYFOMM 60 e S-FLEX 90 A	330	3,44	(KOŁODZIEJ; SOBCZAK; GORYŃSKI, 2023)
TF-SPME	Disruptores endócrinos	Água e água de coco	HPLC-DAD	Papel revestido com poliamida	200	8,33 ⁱ	(SCUR; HUELSMANN; CARASEK, 2023)
TF-MIP	Fármacos	Plasma humano	LC-MS/MS	MIP	30	0,31	(LANGILLE; HANRAHAN; BOTTARO, 2023)
SPME	Substâncias perfluoroalquiladas	Água e plasma	LC-MS/MS	HLB-WAX	40	0,42	(OLOMUKORO; DEROSA; GIONFRIDDO, 2023)
SPME	Micotoxinas	Cerveja	LC-MS	C18 e C8-sulfonado	90	0,94	(ZHOU; WIECZOREK; PAWLISZYN, 2023)
SPE	Hormônios esteroides	Fígado e plasma de ratos	LC-MS/MS	Bond Elut Plexa	240 - 480	2,5 - 5	(EVANGELISTA et al., 2024)

Fonte: Autoria própria

*Quando 96 amostras são processadas.^a Somente o procedimento de dessorção líquida é realizado no 96, antes a extração é feita por 30 min não em paralelo.^b faz o estudo de ligação de fármacos com receptores do corpo e usa o diazepam e albumina humana como modelo. ^cApresenta etapa anterior de extração assistida por micro-ondas. ^d foi usado um 24-well plate, mas autores afirmam que outros sistemas *multi-well*, como o 96, poderiam ser usados. ^e tem uma etapa anterior ao uso do 96-well plate, uma extração ultrassônica de 30 minutos. ^f tem uma etapa anterior ao uso do 96-well plate com um tampão. ^g tem uma etapa prévia ao uso do 96, que não foi considerado aqui. ^h usa essa configuração para determinar o coeficiente de partição octanol/água. ⁱ feito no formato 24-well plate. MIHF-SPME: microextração em fase sólida com fibra oca de monolítico inorgânico, SERS: *surface-enhanced Raman spectroscopy*, PALME: extração em membrana líquida artificial paralela, HFM-SME: microextração em solvente com membrana de fibra oca, FIA-MS: análise por injeção de fluxo acoplada com espectrometria de massas, CE-UV: eletroforese capilar com detecção por ultravioleta.

Dentre as muitas vantagens da combinação desse sistema com as técnicas de preparo de amostras, uma das que mais chamam a atenção é sua alta frequência analítica. Como se pode ver, os tempos de preparo por amostra (quando toda a capacidade do sistema é utilizada) são de poucos minutos. Isso é uma característica bastante interessante para a aplicação em laboratórios de rotina, que precisam processar diversas amostras e o ganho desses aparatos de extrações paralelas pode ser bastante significativo, uma vez que se percebe uma grande redução no tempo de preparo total e no tempo de preparo por amostra como visto na Tabela 1.

Esse ganho de frequência analítica pode ser visto em outros trabalhos que desenvolvem sistema de processamento de amostras simultâneas, como o trabalho de Huelsmann e colaboradores (2021). Nesta metodologia foi utilizada a extração em ponteira descartável (DPX) e desenvolvido um aparato que permite 5 extrações simultâneas. Apesar disso, os sistemas de *96-well plate* e similares são bastante atraentes para isso, uma vez que são compatíveis com sistemas completamente automatizados. Alguns trabalhos da Tabela 1 já utilizavam esses sistemas automatizados, como pode-se ver no trabalho de Boyaci et al. (2014), apresentado na Figura 3.A. Neste trabalho é utilizado um aparato com estações que representam diferentes etapas do preparo de amostras, como pré-condicionamento da fase, extração, evaporação, lavagem e dessorção. Também são utilizados braços mecânicos que tornam o procedimento todo integrado, algo bastante atrativo, uma vez que evita manuseio humano e seus possíveis erros.

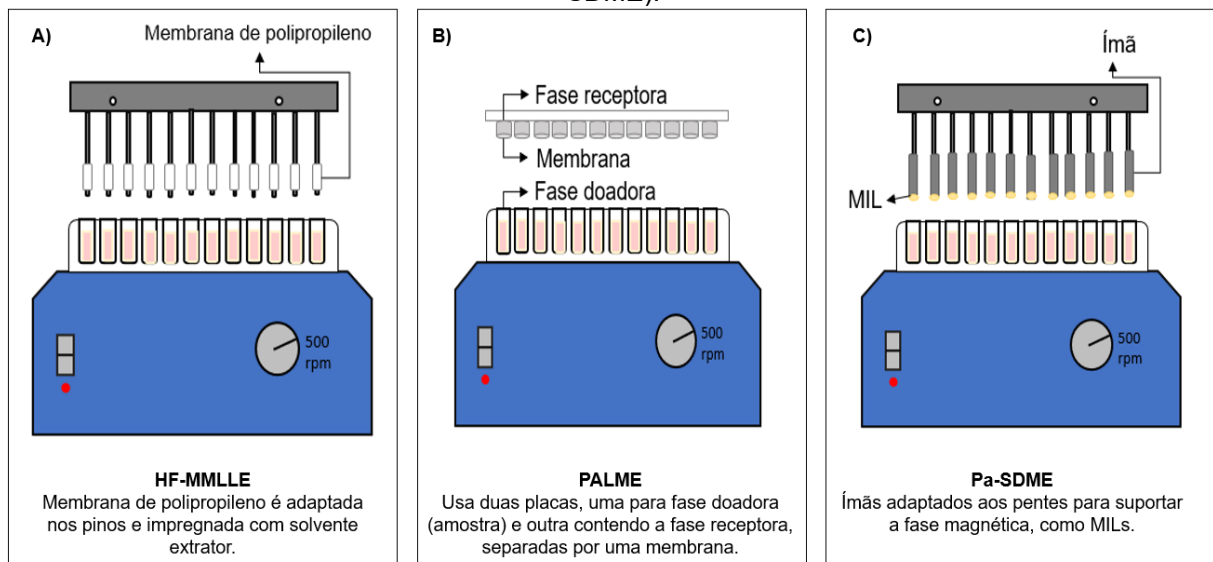
Além disso, é observado na Tabela 1 que esse sistema já foi explorado para o uso em diferentes matrizes, dando destaque aos vários trabalhos para amostras biológicas. Há alguns trabalhos que usam matrizes mais complexas e, portanto, realizam algum tipo de pré-tratamento antes de usar o sistema de 96 poços de amostragem, como é o caso dos trabalhos de Qian *et al.* (2019) e Khaled *et al.* (2020). Esses pesquisadores trabalham com ração animal e tecido bovino, respectivamente. Porém, é importante destacar que mesmo com essas etapas anteriores, a possibilidade de realizar a etapa seguinte com o processamento de 96 amostras simultaneamente representa um ganho em frequência analítica bastante significativo. Também, os extratos desse procedimento podem ser analisados em diferentes instrumentações, mas a grande maioria explora o uso de cromatógrafos líquidos.

Outro ponto importante é o uso desse sistema com diferentes técnicas de preparo de amostras e com diferentes fases extratoras, o que proporciona ainda mais

versatilidade ao seu uso. Na Tabela 1 se tem várias aplicações da SPME e da TF-SPME, com diferentes fases, desde comerciais, como a PDMS até fases consideradas mais verdes, como os bioissorventes: cortiça, terra diatomácea e bráctea.

Também é interessante destacar o uso de técnicas de microextração em fase líquida, havendo configurações como a HF-MMLLE, a PALME e a Pa-SDME, como pode ser visto na Figura 5. Estas configurações permitem ampliar o uso de diferentes fases extratoras em conjunto com o sistema de 96 poços de amostragem, como exemplos temos os trabalhos de Morelli et al. (2020) com os DES e de Mafra et al. (2019 e 2021) com os MILs.

Figura 5. Esquema da combinação do sistema de *96-well plate* com LPME. Em A é representada a extração líquido-líquido em membrana microporosa em fibra oca (HF-MMLLE), em B a extração em membrana líquida artificial paralela (PALME) e em C a microextração em gota única paralela (Pa-SDME).



Fonte: Adaptado de Mafra et al., 2020, Ask et al., 2019 e Mafra et al., 2019.

A Pa-SDME demonstra outra possibilidade com o uso de solventes alternativos, os MILs. Devido ao magnetismo desses solventes foi possível adaptar um pente do sistema de 96 com ímãs ao qual a gota do solvente se mantinha suspensa pela atração magnética. A junção dos MILs com a SDME já é bastante atraente, pois é relatada instabilidade da gota quando solventes orgânicos tradicionais são utilizados nesta técnica, algo que é compensado pela atração magnética da fase extratora com o ímã. O uso do sistema de 96-well plate em conjunto com essa estratégia, representa mais uma vez um ganho de frequência analítica, tanto quando comparada a SDME convencional e ao uso de MILs em técnicas de extração (MAFRA

et al., 2019), inclusive quando se pensa que a automatização da SDME é considerada difícil (TANG et al., 2018). Além disso, Mafra *et al.* (2019) destacam que com a possibilidade de uso de sistemas completamente automatizados, pode-se ter um ganho ainda maior referente a precisão da técnica ao reduzir a praticamente zero o manuseio humano. Porém, os autores trazem que uma das limitações dessa técnica é a necessidade do uso de solventes magnéticos (MAFRA et al., 2019).

Também é importante citar as aplicações de materiais desenvolvidos em impressoras 3D utilizados em conjunto de técnicas de extração e os sistemas de multipoços de amostragem. Como exemplo pode-se citar o trabalho desenvolvido por Scur, Huelsmann e Carasek (2023) em que papel dopado com poliamida foi usado como fase extratora, sendo esta adaptada ao pente desenvolvido com auxílio de uma impressora 3D. Neste trabalho também foi feito um poço de amostragem com capacidade para 24 amostras (SCUR, HUELSMANN e CARASEK, 2023). Belka e colaboradores (2019) propõe o uso de um material feito na impressora 3D de LAYFOMM 60 que permitia a adaptação nos pentes do sistema de poços de amostragem para a extração de esteroides em plasma humano. Outro trabalho explorou o uso de pentes completamente impressos com diferentes materiais poliméricos que foram utilizados diretamente como fase extratora. Os autores utilizam esses materiais para extrair diferentes analitos de fluidos orais, sendo que os materiais que apresentaram melhores respostas foram Polyamide 6, LAYFOMM 60 e S-FLEX 90 A (KOŁODZIEJ; SOBCZAK; GORYŃSKI, 2023).

Como pode-se notar, os sistemas de multi-poços são bastante versáteis, tendo sido aplicados para diversas amostras e analitos, com diferentes objetivos. Por exemplo, o trabalho de Skotvoll et al. (2021) usa a técnica de preparo de amostras junto a esse sistema para separar drogas e seus metabólitos das diferentes organelas celulares e avaliar o seu metabolismo no corpo. Também, há o trabalho de Bao et al. (2014) que busca determinar o coeficiente de partição octanol/água e de Vuckovic e Pawliszyn (2009) que busca determinar a ligação de medicamentos a receptores do corpo. Além disso, trazem diversas vantagens como a alta frequência analítica e possibilidade de automação indo de encontro às necessidades de diferentes áreas de análise como a clínica, farmacêutica, alimentícia e ambiental (MIRNAGHI et al., 2011). As diferentes possibilidades de combinações relacionadas às técnicas de preparo de amostras e às fases extratoras que ainda podem ser muito exploradas, a fim de melhorar parâmetros analíticos e operacionais, são importantes focos de estudo.

Dentre essas fases, pode-se citar os líquidos iônicos e líquidos iônicos magnéticos, os quais suas características e aplicações em preparo de amostras serão discutidas nos itens a seguir.

2.4 USO DE MATERIAIS EXTRATORES ALTERNATIVOS

Assim como a automação é uma das tendências em preparo de amostra a fim de buscar se adequar aos princípios da GAC, diferentes pesquisadores vêm buscando materiais extratores alternativos que sejam mais verdes, diminuindo impactos ao meio ambiente e trazendo vantagens como redução de custos e melhoria de parâmetros analíticos, como seletividade, por exemplo (CARASEK et al., 2019). Dentre as alternativas pode-se citar os biossorbentes, como cortiça e bráctea, e solventes alternativos como os ILs, DES, os solventes de hidrofiliçidade comutável (SHS) e os supramoleculares (SUPRAS), entre outros.

Neste trabalho, foram explorados os ILs que são sais que apresentam temperatura de fusão abaixo de 100 °C, e são considerados solventes não moleculares. Esses solventes são conhecidos como *designer solvents* e se tornaram atraentes para o uso em preparo de amostras devido às suas propriedades físico-químicas e a possibilidade de desenvolvimento de materiais com características modificáveis, o que pode levar à produção de materiais mais seletivos (CARASEK et al., 2019; DELIŃSKA; YAVIR; KLOSKOWSKI, 2021). Nos itens a seguir serão apresentadas suas características, dificuldades relacionadas a seu uso e aplicações.

2.4.1 LÍQUIDOS IÔNICOS

Os ILs são sais com baixo ponto de fusão que se destacam devido a suas propriedades físico-químicas, assim como suas diferentes possibilidades de produção de novos materiais, sendo conhecidos como *designer solvents*, pois suas propriedades e estrutura podem ser moldados de acordo com a aplicação (DELIŃSKA; YAVIR; KLOSKOWSKI, 2021). Eles são formados por cátions e ânions, orgânicos ou inorgânicos, e esses componentes podem ser alterados e, com isso, suas propriedades podem ser variadas. Com essas diferentes possibilidades de combinação é possível estimar que pode haver cerca de 10^{18} ILs com diferentes propriedades e, portanto, aplicações. Mas em geral, dentre as propriedades que mais

chamam atenção aos ILs e que são comuns a eles, estão a pressão de vapor negligenciável, alta estabilidade térmica e condutividade. Além disso, outras propriedades como viscosidade e solubilidade em água e a possibilidade de incorporar diferentes grupos na estrutura que podem gerar materiais para tarefas específicas, possibilitando interações mais seletivas, por exemplo, chamam ainda mais atenção e são motivos para seu uso em diferentes áreas da química (CLARK et al., 2018; LLAVER et al., 2021; TRUJILLO-RODRÍGUEZ; PINO; MIRÓ, 2020).

Diferentes grupos podem ser incorporados aos componentes do IL para gerar materiais de propriedades únicas. Os autores Delinska, Yavir e Kloskowski (2021) destacaram alguns dos principais grupos utilizados como cátions e ânions, e comentam que a síntese dos ILs pode ser feita de diversas formas incluindo reações de duplatroca, combinação direta dos constituintes, irradiação por micro-ondas ou ultrassom, entre outras estratégias. Esses materiais geralmente apresentam pressão de vapor negligenciável, inclusive segundo Marcinkowska et al. (2019) a pressão de vapor medida para alguns ILs é baixa quando em temperaturas entre 200 e 300 °C. Isso representa uma das suas principais vantagens frente a solventes orgânicos tradicionais, porque durante um procedimento de extração, por exemplo, não é vista perda de solvente por evaporação, o que pode levar a melhor reprodutibilidade, e garante maior segurança ao analista (MARCINKOWSKA et al., 2019; YAVIR et al., 2020).

Além disso, os ILs também tendem a apresentar alta estabilidade térmica, sendo estimado que pode variar de 200 a 400 °C. Este valor pode variar de acordo com a estrutura de cátion e ânion e alguns autores reportam uma ordem de estabilidade térmica de acordo com alguns dos componentes (MARCINKOWSKA et al., 2019; YAVIR et al., 2020). Já com relação a viscosidade, diferentes combinações podem ser feitas para a produção de um material com viscosidade adequada ao tipo de aplicação. Da mesma forma, há autores que proporcionam uma relação entre tipos diferentes de cátions e ânions com aumento ou diminuição da viscosidade. Porém, em geral os ILs apresentam alta viscosidade, principalmente quando comparados a solventes orgânicos tradicionais. Isso pode representar um dos fatores mais complexos ao trabalhar com eles em técnicas de microextração, pois a viscosidade da solução está relacionada à taxa de difusão dos analitos, o que pode dificultar o processo de extração. Também pode estar relacionada com uma imprecisão da injeção do extrato deste material em instrumentos de análise. Mas, por outro lado,

pode ser um parâmetro bastante útil, podendo ser explorado de várias formas em diferentes técnicas, trazendo vantagens como, por exemplo, a obtenção de gotas maiores e mais estáveis em SDME (LLAVER et al., 2021; MARCINKOWSKA et al., 2019; YAVIR et al., 2020).

A solubilidade desses materiais em água é mais um dos parâmetros que pode ser mudado de acordo com a estrutura dos seus componentes, sendo uma propriedade bastante importante, pois está ligada ao poder de solvatação do IL. No caso de técnicas de microextração, esse parâmetro irá afetar a separação de fases e recuperação do extrato, dessa forma, quando se trabalha com amostras aquosas e pretende-se usá-lo como fase extratora, é adequada a escolha de um IL hidrofóbico (DELIŃSKA; YAVIR; KLOSKOWSKI, 2021; YAVIR et al., 2020). Este parâmetro é bastante afetado pela identidade do ânion, por exemplo, ILs que usam bis(trifluorometilsulfonil)imida (NTf_2) e hexafluorofosfato (PF_6) são mais hidrofóbicos que os que usam cloreto ou brometo, por exemplo. Além disso, o cátion também pode influenciar neste parâmetro, sendo que o uso de cátions com longas cadeias alquílicas acarreta maior hidrofobicidade (MARCINKOWSKA et al., 2019). A solubilidade destes materiais em água também pode ser um problema, uma vez que se muito solúveis em água, pode ocorrer a contaminação ambiental. É importante ressaltar que, mesmo ILs hidrofóbicos podem absorver água, o que pode afetar a sua estrutura e, portanto, sua aplicação (YAVIR et al., 2020). A sua polaridade também é variável de acordo com a estrutura de seus componentes, sendo que os ILs podem cobrir uma faixa ampla de polaridade. Marcinkowska et al. (2019) traz uma representação gráfica de polaridade de alguns solventes orgânicos tradicionais e as faixas que alguns ILs cobrem, mostrando sua versatilidade (MARCINKOWSKA et al., 2019).

Por fim, é importante destacar dados sobre sua toxicidade, uma vez que esses materiais vêm sendo caracterizados como alternativas verdes ao uso de solventes orgânicos tradicionais. Muitos autores vêm estudando sobre a sua toxicidade e a conclusão é que os efeitos dependem da estrutura dos componentes dos ILs. Algo que alguns autores observaram é que os cátions impactam mais na toxicidade desse material. Segundo Cho et al. (2021), os cátions apresentam maior lipofilicidade e afinidade pela membrana fosfolipídica de microrganismos por atração eletrostática da carga positiva. Estes autores ainda destacam que apesar de essa interação não acontecer com os ânions, eles não devem ser ignorados ao averiguar a toxicidade de IL. Outro estudo realizado por Bystrzanowska et al. (2019), mostra um gráfico de

toxicidade em que foi adicionado solventes orgânicos tradicionais e alguns ILs e os resultados mostram que os ILs não são menos tóxicos que solventes como metanol, isopropanol e acetona, mas ainda sim são menos tóxicos que solventes como tolueno e clorofórmio. Apesar disso, Cho *et al.* (2021) relatam que os dados presentes na literatura não são suficientes para uma classificação adequada dos ILs. Bystrzanowska *et al.* (2019) que realizaram um estudo para avaliar a segurança em termos de biodegradabilidade e toxicidade dos ILs, destacam que o estudo feito por eles foi aplicado a uma quantidade limitada de ILs, principalmente quando comparada a quantidade de ILs disponíveis. Além disso, comentam que seria interessante avaliar além desses fatores questões relacionadas à produção desses materiais quando compará-los com solventes tradicionais.

Ainda assim, é importante destacar que as propriedades dos ILs são bastante interessantes e são exploradas para a resolução de diversos problemas em diversas áreas. Na Química Analítica, por exemplo, a aplicação desses solventes não se limita apenas às técnicas de preparo de amostra, mas também vem sendo explorada em técnicas de separação, na espectrometria de massas e na eletroquímica. Em técnicas de separação há relatos do uso desses materiais para a cromatografia a gás (GC), cromatografia líquida (LC) e eletroforese capilar (CE) (LLAVER *et al.*, 2021). No preparo de amostras eles vêm sendo usados tanto em técnicas de extração em fase líquida e fase sólida, sendo que alguns derivados dos ILs como os líquidos iônicos magnéticos (MILs) e os líquidos iônicos poliméricos (PILs), vem ganhando destaque e aplicações devido a novas vantagens que eles trazem. Os MILs são ILs que possuem um componente paramagnético em sua estrutura que permite que eles respondam a aplicação de um campo magnético. Já os PILs são gerados pela polimerização de um monômero de IL.

O uso de ILs em técnicas de extração em fase sólida pode ser pela sua incorporação em outros materiais sorventes ou pode ser feita pelo uso de PILs. Clark *et al.* (2018) relatam que estes materiais podem apresentar até melhor estabilidade térmica quando comparada aos ILs e o uso deles como fibra em SPME pode ser uma ótima estratégia para o uso do HPLC como instrumentação final, pois para isso, é necessária uma etapa de dessorção líquida e em geral essas fibras apresentam maior estabilidade a exposição a solventes orgânicos (CLARK *et al.*, 2018).

Já para o uso em técnicas de extração em fase líquida, há relatos do seu uso para LLE, HF-LPME, SDME e DLLME. É acentuado que a sua aplicação nessas

técnicas traz como principais vantagens a possibilidade de uso de materiais com propriedades únicas, voltadas para uma determinada aplicação e o uso de um material que representa menor risco ao analista, devido à baixa volatilidade. No caso da SDME, há ainda ganhos como os já citados acima relacionados a viscosidade, tensão superficial e sua pressão de vapor negligenciável que permite a formação de gotas maiores e mais estáveis, mesmo após tempos de extração longos ou uso de altas temperaturas durante a extração, garantindo melhor reprodutibilidade (CLARK et al., 2018; LLAVÉR et al., 2021; MARCINKOWSKA et al., 2019).

Na DLLME, os ILs vêm sendo usados e explorados em diversas configurações da técnica. São utilizados como substitutos aos solventes extratores convencionalmente utilizados nessa técnica, sendo feita da maneira tradicional. Mas também há o uso de controle de temperatura para dispersá-lo em solução evitando o uso de solventes dispersores. Há também o uso de ILs formados *in situ*, em que é utilizado um IL solúvel em água que é adicionado a amostra e, em seguida, é adicionado um reagente que irá trocar o ânion desse IL tornando-o hidrofóbico e dessa forma promovendo a separação de fases. Na DLLME também há relatos do uso de ILs hidrofílicos como solventes dispersores. E por fim, o uso de MILs como fase extratora cuja principal vantagem se encontra na etapa de separação de fases que pode ser feita com o auxílio de um ímã (CLARK et al., 2018; LLAVÉR et al., 2021; RYKOWSKA; ZIEMBLIŃSKA; NOWAK, 2018).

2.4.1.1 LÍQUIDOS IÔNICOS MAGNÉTICOS

Os MILs são uma subclasse dos ILs que vem atraindo bastante atenção e diversos esforços vêm sendo feitos para o uso desse material em diversas aplicações, incluindo em técnicas de microextração. Eles possuem um componente paramagnético incorporado a estrutura de um dos seus constituintes, podendo ser um composto de coordenação feito de metais paramagnéticos como ferro, manganês, cobalto, níquel, disprósio e gadolínio, ou pode ser usado um radical orgânico. Além das propriedades físico-químicas já citadas dos ILs, os MILs apresentam susceptibilidade magnética, ou seja, respondem a um campo magnético externo, o que pode ser explorado em técnicas de preparo de amostra a fim de simplificar algumas etapas, como a de separação de fases em DLLME (CLARK et al., 2018; SAJID, 2019; VARONA et al., 2021). Apesar de que suspensões contendo materiais

magnéticos possam ser usadas e exploradas para esse mesmo fim, o uso de MILs tem uma vantagem por serem líquidos homogêneos, pois nessas suspensões há o risco de aglomeração, sedimentação ou degradação do material que acarretaria resultados problemáticos (CLARK et al., 2018; VARONA et al., 2021). Ademais, eles apresentam outra vantagem frente aos ILs convencionais que, devido a seu magnetismo, permite que eles sejam recuperados e, quando possível, reciclados (JOSEPH et al., 2016). Além disso, por conta das diferentes combinações de cátions e ânions, eles podem interagir com o analito por interações π - π , ligações de hidrogênio, interações iônicas, entre outras (ALVES et al., 2022).

As propriedades dos MILs trouxeram o interesse de vários pesquisadores para resolução de diversos problemas, sendo, portanto, aplicado a diferentes áreas como catálise, remediação ambiental, adsorção de gás e especialmente na química analítica, com aplicações em técnicas de separação, sensores e preparo de amostras (JOSEPH et al., 2016; SAJID, 2019). No entanto, essas mesmas propriedades podem ser a fonte de limitações e dificuldades, mas também são usadas de forma vantajosa e criativa.

O uso de MILs na DLLME vem sendo explorado como fase extratora e suas grandes vantagens são a possibilidade de usar materiais específicos para determinada aplicação, com seletividade variável, e substituir etapas extensas de separação de fases como a centrifugação, por uma simples separação magnética, o que simplifica o procedimento e pode levar a um aumento da frequência analítica. Inclusive, segundo um levantamento de Sajid (2019), a combinação MIL e técnicas de microextração foi iniciada com a DLLME (SAJID, 2019).

Os primeiros MILs usados eram a base de compostos de coordenação de Fe (III), usando ânions como o tetracloroferrato ($[\text{FeCl}_4]^-$), que possuem momento magnético, pois o ferro tem distribuição eletrônica d^5 alto spin. O problema é que eles tendem a ter uma maior solubilidade em água e, portanto, não poderiam ser usados para análise de amostras aquosas, pois quando solubilizados em água eles perdiam suas propriedades magnéticas (SAJID, 2019; WANG et al., 2014). Alguns autores especulam que esse seja o motivo pelo qual a primeira aplicação dos MILs em DLLME foi em uma amostra hidrofóbica (óleos vegetais) e com essa estratégia os autores reportam ganhos de frequência analítica quando comparada com outros métodos já usados. Outros autores também exploraram essa estratégia usando MILs hidrofílicos, mas esforços foram voltados para o desenvolvimento de MILs hidrofóbicos para

aplicação em amostras aquosas. Para isso, diversos artifícios foram usados como incorporação de longas cadeias alquílicas no cátion, manipulação do componente paramagnético para incorporar maior hidrofobicidade e magnetismo. Inclusive outros centros metálicos foram propostos, como manganês, cobalto, gadolínio e disprósio, a fim de encontrar uma alternativa com boas propriedades magnéticas, mas que não sofresse hidrólise como os que utilizavam ferro (SAJID, 2019).

Diversas aplicações com esses materiais são relatadas na literatura, sendo aplicado para diferentes amostras e diferentes analitos. Há aplicações para amostras ambientais, alimentícias e biológicas, como visto na Tabela 2, sendo que para essas amostras biológicas, se pode dar destaque ao uso deles para extração de DNA. Bowers et al. (2019) descreveram um método desenvolvido para extração de DNA com MILs como uma alternativa mais barata, rápida e simples do que as comercialmente disponíveis (BOWERS et al., 2019).

Tabela 2. Aplicação de líquidos iônicos magnéticos como fase extratora em preparo de amostra.

Amostras	Analitos	Preparo de amostra	Instrumentação	MIL	Referência
Óleos vegetais	Herbicidas	DLLME	HPLC-UV	[C ₆ mim][FeCl ₄]	(WANG et al., 2014)
Água e minério	Au e Ag	DLLME	ETAAS	[Pbmim](FeCl ₄) ₂	(BEIRAGHI et al., 2015)
Oleaginosas	Herbicidas	MSPD-MIL-DLLME	HPLC-UV	[C ₄ mim][FeCl ₄]	(WANG et al., 2015)
Soluções aquosas	DNA	SDME e DDE	PCR	[(C ₈) ₃ BnN][FeCl ₃ Br], [(C ₁₆ BnIM) ₂ C ₁₂][NTf ₂ , FeCl ₃ Br] e [P _{6,6,6,14}][FeCl ₄]	(CLARK et al., 2015)
Água	Fenóis e fármacos	SADBME	HPLC-DAD	N _{8,8,8,1} [FeCl ₄]	(CHATZIMITAKOS et al., 2016)
Água	HPAs	DLLME	HPLC-FLD	[N _{8,8,8,B}][FeCl ₃ Br]	(TRUJILLO-RODRÍGUEZ et al., 2016)
Água	Fármacos, fenóis, inseticidas e HPAs	DLLME	HPLC-UV	[P _{6,6,6,14}] ₂ [MnCl ₄]	(YU; MERIB; ANDERSON, 2016)
Água	Cloranfenicol	ATPE	HPLC-UV	[TMG][TEMPO-OSO ₃]	(YAO; YAO, 2017)
Água	Compostos aromáticos	HS-SDME e DLLME	HPLC-UV	[P _{6,6,6,14}] ₂ [MnCl ₄] e [Aliquat] ₂ [MnCl ₄]	(AN; RAHN; ANDERSON, 2017)
Água e arroz	Se	UDSA-DLLME	GFAAS	[C ₄ mim][FeCl ₄]	(WANG et al., 2017)
Água	Filtros UV	SBDLME	TD-GC-MS	[P _{6,6,6,14}][Ni(hfacac) ₃]	(CHISVERT et al., 2017)
Leite	Ácidos graxos	Vaccum-HS-SDME	GC-MS	[P _{6,6,6,14}][Mn(hfacac) ₃]	(TRUJILLO-RODRÍGUEZ; PINO; ANDERSON, 2017)
Água	HPAs	SBDLME	TD-GC-MS	[P _{6,6,6,14}][Ni(hfacac) ₃]	(BENEDÉ; ANDERSON; CHISVERT, 2018)
Água e comida	Parabenos	DLLME	HPLC-UV	[N _{1,8,8,8}][FeCl ₄]	(MOUSAVI; YAMINI; SEIDI, 2018)
Planta	Cloridrato de berberina	ATPE	HPLC-UV	[N _{1,1,5,20H}][TEMPO-OSO ₃]	(NIE et al., 2018)
Água	Clorobenzenos	HS-SDME	TD-GC-MS	[Emim] ₂ [Co(NCS) ₄]	(FERNÁNDEZ; VIDAL; CANALS, 2018)

Tabela 2. Aplicação de líquidos iônicos magnéticos como fase extratora em preparo de amostra. (Continuação)

Amostras	Analitos	Preparo de amostra	Instrumentação	MIL	Referência
Mel	Cd	DLLME	ETAAS	[P _{6,6,6,14}]FeCl ₄	(FIORENTINI; ESCUDERO; WUILLOUD, 2018)
Soluções padrões e plasma	DNA	SDME e SA-DLLME	qPCR	[P _{6,6,6,14}][Ni(hfacac) ₃]	(EMAUS et al., 2018)
Urina	Estrogênios	DLLME	HPLC-DAD	[P _{6,6,6,14}] ₂ [MnCl ₄]	(MERIB et al., 2018)
Óleos vegetais	Cd e Pb	UASEME	ETAAS	[C ₄ mim][FeCl ₄]	(YAO et al., 2018)
Água	Triazinas e sulfonamidas	DLLME	HPLC-DAD	[P _{6,6,6,14}][Dy(hfacac) ₄]	(CHATZIMITAKOS et al., 2018)
Frutas e vegetais	Pesticidas	MSPD	HPLC-DAD	[P _{6,6,6,14}][Co(hfacac) ₃]	(CHATZIMITAKOS; ANDERSON; STALIKAS, 2018)
Frutas	Ácidos fenólicos	ATPE	HPLC-DAD	1-butyl-3-methylimidazolium tetrachloroferrate	(MUMCU; BOZKURT, 2019)
Folhas de plantas	DNA	SDME	FLD e PCR	[P _{6,6,6,14}][Ni(hfacac) ₃]	(DING et al., 2019)
	DNA	DLLME	PCR	[P _{6,6,6,14}][Co(hfacac) ₃] e [P _{6,6,6,14}][Ni(hfacac) ₃]	(MARENCO et al., 2019)
Água	HPAs, filtros UV, alquilfenóis e plastificantes	<i>In situ</i> DLLME/MIL	HPLC-DAD	[Ni(C ₄ Im) ₄][NTf ₂] ₂ e [Ni(BeIm) ₄][NTf ₂] ₂	(TRUJILLO-RODRÍGUEZ; ANDERSON, 2019a)
Água	Poluentes orgânicos	<i>In situ</i> SBDLME/MIL	TD-GC-MS	[Ni(C ₈ Im) ₄][NTf ₂] ₂ , [Ni(C ₄ Im) ₄][NTf ₂] ₂ e [Co(C ₈ Im) ₄][NTf ₂] ₂	(TRUJILLO-RODRÍGUEZ; ANDERSON, 2019b)
Mel	As	DLLME	ETAAS	[P _{6,6,6,14}]FeCl ₄	(FIORENTINI; CANIZO; WUILLOUD, 2019)
Alimento	Aminas biogênicas	DLLME	HPLC-UV	[P _{6,6,6,14}] ₂ [CoCl ₄]	(CAO et al., 2019)
Folhas de chá	Polifenóis	MAE	UV-Vis	C ₃ MIMFeCl ₄	(GUO et al., 2019)
Água	Contaminantes emergentes	Pa-SDME	HPLC-DAD	[P _{6,6,6,14}] ₂ [MnCl ₄]	(MAFRA et al., 2019)
Solução aquosa	DNA	<i>In situ</i> DLLME	FLD e HPLC-DAD	[Co(BIm) ₄][NTf ₂] ₂ , [Ni(BnIm) ₄][NTf ₂] ₂ e [Co(BIm) ₄][NTf ₂] ₂	(BOWERS et al., 2019)

Tabela 2. Aplicação de Líquidos iônicos magnéticos como fase extratora em preparo de amostra. (Continuação)

Amostras	Analitos	Preparo de amostra	Instrumentação	MIL	Referência
Mel	Cr	DLLME	ETAAS	[P _{6,6,6,14}][FeCl ₄]	(FIORENTINI; OVIEDO; WUILLOUD, 2020)
Urina	Pesticidas, fármacos e hormônios	DLLME	HPLC-DAD	[P _{6,6,6,14}] ₂ [MnCl ₄]	(WILL et al., 2020)
Leite e cosméticos	Estrogênios	DLLME	HPLC-UV	[P _{6,6,6,14}] ₂ [CoCl ₄]	(FENG et al., 2020)
Tampão Tris e plasma	Fragmentos de DNA	DLLME	qPCR	[N _{8,8,8,Bz}][Ni(hfacac) ₃] e [P _{6,6,6,14}][Ni(Phtfacac) ₃]	(EMAUS; ANDERSON, 2020)
Água e solo	Nitrotoluenos	UA-DMIL/MSW-ME	GC-MS	[P _{6,6,6,14}] ₃ [GdCl ₆]	(ISMAILZADEH et al., 2020)
Leite	Sulfonamidas	<i>In situ</i> DLLME/MIL	HPLC-UV-Vis	[C ₄ MIM-TEMPO][PF ₆]	(YAO; DU, 2020)
Óleo de motor, gasolina e diesel	Cd	DLLME	ETAAS	[Emim] ₂ [Co(SCN) ₄]	(AGUIRRE et al., 2020)
Água, solo e sedimento	As (III) e As (V)	DLLME	ETAAS	[P _{6,6,6,14}] ₃ [DyCl ₆] e [P _{6,6,6,14}][FeCl ₄]	(OVIEDO et al., 2020)
Cerveja e leite	Aminas biogênicas	DLLME	HPLC-UV	[N _{8,8,8,B}] ₂ [Co(SCN) ₄]	(CAO et al., 2020)
Água	Estrogênios	SBDLME	HPLC-UV	[P _{6,6,6,14}] ₃ [Fe(CN) ₆]	(BERTON et al., 2021)
Produtos de abelhas	Pb	DLLME	ETAAS	[P _{6,6,6,14}] ₂ [MnCl ₄]	(FIORENTINI; BOTELLA; WUILLOUD, 2021)
Água	Drogas anti-hipertensiva	DLLME	HPLC-UV	[P _{6,6,6,14}] ₃ [GdCl ₆]	(ABDELAZIZ; MANSOUR; DANIELSON, 2021)
Lavanda	Óleos essenciais	WP-MIL-HS-SDME	GC-MS	[C ₈ MIM]FeCl ₄	(CHEN et al., 2021)
Plasma, urina artificial e saliva artificial	Mutação BRAF V600E	DLLME	qPCR	[P _{6,6,6,14}][Mn(hfacac) ₃] e [N _{8,8,8,Bz}][Mn(hfacac) ₃]	(EMAUS; ANDERSON, 2022)
Urina e esgoto	Fármacos	D-μSPE	HPLC-DAD	[OA]FeCl ₄	(HASSAN; TANIMU; ALHOOSHANI, 2022)
Água	Sb (III) e Sb (V)	DLLME	ETAAS	[P _{6,6,6,14}][FeCl ₄]	(OVIEDO et al., 2021)
Urina	Pesticidas	Pa-SDME	HPLC-DAD	[P _{6,6,6,14}] ₂ [MnCl ₄]	(MAFRA et al., 2021)
Urina e esgoto	Carbamazepina	D-μSPE	HPLC-DAD	[OA]FeCl ₄	(HASSAN; TANIMU; ALHOOSHANI, 2021)

Tabela 2. Aplicação de Líquidos iônicos magnéticos como fase extratora em preparo de amostra. (Continuação)

Amostras	Analitos	Preparo de amostra	Instrumentação	MIL	Referência
Plasma, urina artificial e saliva artificial	microRNA	DLLME/MIL	EXPAR com FLD	$[P_{6,6,6,14}][Ni(hfacac)_3]$ e $[P_{6,6,6,14}][Co(hfacac)_3]$	(EMAUS; ANDERSON, 2021)
Leite	Antibióticos	AALLME com retroextração	HPLC-DAD	$[C_6MIM][FeCl_4]$	(GHASEMI et al., 2022)
Mel	5-hidroximetilfurfural	UA-DLLME	UV-Vis	$[C_8mim]FeCl_4$	(ALTUNAY, 2022)
Planta	Metribuzin	VA-DLLME	UV-Vis	$[P_{6,6,6,14}^+]_2[MnCl_4^{2-}]$	(ELIK et al., 2022)
Água e alimento	Cd(II)	DLLME	FAAS	$[P_{6,6,6,14}]_2[CoCl_4]$	(ELIK; ALTUNAY, 2022)
Água e alimento	Antibióticos	VA-DLLME com retroextração	HPLC-UV	$[Co(DMBG)_2][Co(hfaca)_3]$	(QIAO et al., 2022)
Chá	Micotoxinas	UA-MSE/ETA-DLLME	HPLC-FLD	$[C_4MIM][FeCl_2Br_2]$	(GHOLIZADEH et al., 2022)
Urina	Anticoagulantes	DSPE-DLLME	HPLC-DAD	$[C_6MIM][FeCl_4]$	(MOHEBBI et al., 2022)
Plasma	Flavipiravir	DLLME	HPLC-UV	$[P_{6,6,6,14}^+]_3[GdCl_6^{3-}]$	(ABDALLAH et al., 2022)
Água	Invermectina	DLLME	HPLC-UV	$[P_{6,6,6,14}^+]_3[GdCl_6^{3-}]$	(ABDELAZIZ et al., 2022)
Leite e mel	Fluoroquinolonas	DLLME	HPLC-UV	$[N_{8,8,8,Ac}^+]_2[Co(SCN)_4^{2-}]$	(XU et al., 2023)
Plasma e fluído cerebrospinal	Neurotransmissores	LLME	UPLC-QqQ/MS2	$[P_{6,6,6,14}]_2[CoCl_4]$	(DING et al., 2023)
Bebidas	Parabenos	DLLME com retroextração	HPLC-UV	$Mn(HIM)_4[Mn(hfaca)_3]_2$	(QIAO et al., 2023)
Planta	DNA	VA-MSPD	q-PCR	$[P_{6,6,6,14}^+][Ni(hfacac)_3]$	(DE SILVA et al., 2023)
	DNA	LLME	UV	Oligonucleotideo- $[C_2IM][Ni(PF_6)_2Cl_2]$	(CHEN et al., 2023)

Fonte: Autoria própria

As diferentes propriedades dos MILs vêm sendo exploradas de diferentes formas para melhorias em várias técnicas de microextração, como destacado na Tabela 2. Porém estas mesmas propriedades são a razão de algumas de suas limitações. A compatibilidade dos MILs com sistemas de cromatografia líquida é uma delas. A cromatografia líquida é afetada pela viscosidade destes solventes, que causa um aumento de pressão residual. Algumas alternativas são a diluição do MIL antes da injeção ou adição de um processo de re-extração para usar uma fase mais compatível. Além disso, a injeção direta de alguns MILs pode gerar sinais de fundo quando utilizado sistemas de detecção como de arranjo de diodos (DAD), pois eles podem absorver em uma vasta faixa de comprimento de onda, o que pode vir a atrapalhar a análise. Também, no caso da DLLME é descrito por Sajid (2019), que devido a viscosidade desse líquido ele é disperso em gotículas de tamanhos variados. Além de que, muitas vezes eles tendem a aderir à parede do frasco, o que pode acarretar erros (SAJID, 2019). Dessa forma, alternativas para contornar essas limitações vêm sendo exploradas.

Abdelaziz, Mansour e Danielson (2021) introduziram um MIL a base de gadolínio (Gd) para a determinação de fármacos em amostras de água. Neste trabalho, foi comparado a eficiência de extração desse material com análogos produzidos com ferro e manganês, e esse novo MIL apresentou as melhores respostas. Além disso, os autores destacaram outras vantagens desse MIL a base de Gd, dentre elas tem-se a viscosidade reduzida, principalmente quando comparado ao MIL a base de Mn. Também é citado que esse MIL apresenta uma absorbância menor no UV, maior susceptibilidade magnética e menor tendência a hidrolisar em solução aquosa (ABDAZIZ, MANSOUR e DANIELSON, 2021). Por conta disso, torna-se uma boa alternativa aos MILs já utilizados, inclusive esse MIL também foi reportado para determinação de ivermectina em água (ABDELAZIZ et al., 2022) e flavipiravir em plasma (ABDALLAH et al., 2022).

Outra tendência é o uso de MILs bimagnéticos com dois componentes paramagnéticos, um no cátion outro no ânion, a fim de melhorar a susceptibilidade magnética do material. São reportados na literatura duas formas, ou pela combinação de dois compostos de coordenação (ABBASI et al., 2022; WU; SHEN, 2019) ou por um composto de coordenação e um radical orgânico (MIAO et al., 2011). A melhoria de susceptibilidade magnética é significativa, Wu e Shen (2019) reportam, por exemplo, que as repostas magnéticas de MILs bimagnéticos com lantanídeos são

cerca de 4 vezes maiores quando comparadas com MILs que apresentam somente um dos íons com lantanídeos. Aplicações positivas do uso desses MILs vêm sendo reportadas para preparo de amostras. Qiao e colaboradores (2022) propuseram o uso desses MILs em que ambos cátion e ânion são compostos de coordenação de Co(II) para a determinação de antibióticos em água e amostras de alimento. Outra aplicação foi para a determinação de parabenos em bebidas utilizando um MIL com Mn(II) presente na estrutura de ambos cátion e ânion (QIAO et al., 2023).

Esses trabalhos de MILs bimagnéticos utilizaram outra estratégia que é a re-extração. Dessa maneira, os autores adicionaram uma etapa para retirar os analitos extraídos pelo MIL e transferi-los para uma outra fase. Em um dos trabalhos foi utilizado uma solução contendo 2% de ácido fórmico para a re-extração (QIAO et al., 2022), enquanto que no outro exemplo os autores descrevem essa etapa como decomposição do MIL ao adicionar acetato de etila e ácido clorídrico, neste caso o acetato de etila foi coletado, seco e diluído novamente para injeção (QIAO et al., 2023). Ghasemi e colaboradores (2022) também usaram essa alternativa para a determinação de antibióticos em leite, neste caso foi utilizado um MIL composto por [C₆MIM] [FeCl₄] e como solução para a re-extração foi feita uma mistura contendo metanol, acetonitrila e ácido fórmico (0,02%) (GHASEMI et al., 2022). Essa ideia, pode ser uma ótima forma de contornar os efeitos negativos da injeção de MILs em sistemas de HPLC.

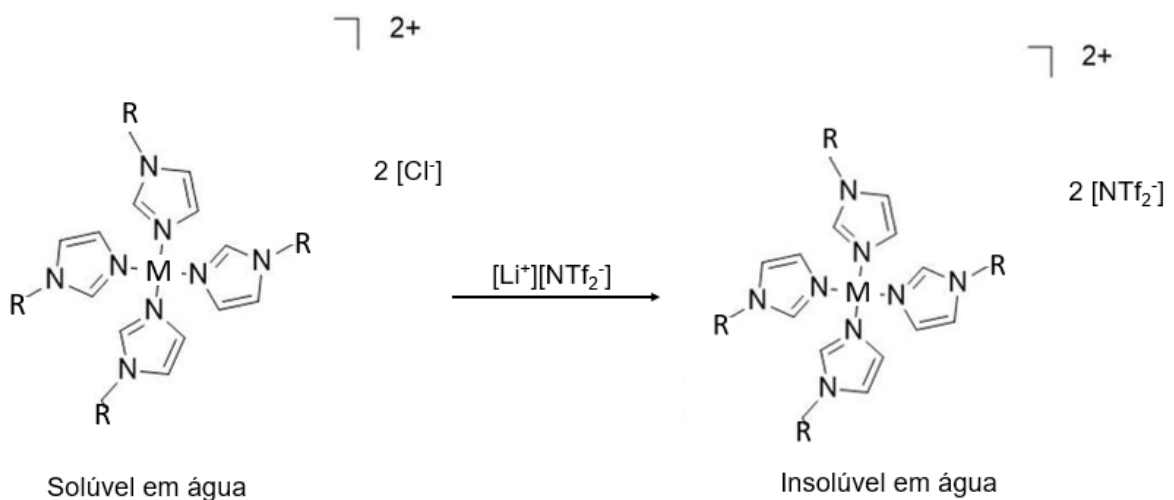
É importante destacar também as vantagens do uso dos MILs para extração de DNA e RNA, que podem solucionar problemas como a baixa recuperação dos analitos e a presença de interferentes que podem afetar a amplificação por PCR (ALVES et al., 2022). Emaus e Anderson (2021), por exemplo, utilizaram um MIL para extração de microRNA e reportam que o uso desse solvente reduziu o sinal de fundo de reações de amplificação não específicas e aumentou a taxa de reação, permitindo a detecção de concentrações menores. Além disso, os autores ainda destacam que a metodologia envolvendo MILs é mais rápida que kits convencionais, garantindo uma maior frequência analítica (EMAUS e ANDERSON, 2021).

Essas vantagens dos MILs para a extração e determinação de DNA também é destacada por De Silva e colaboradores (2023). Eles utilizam uma técnica que chamam de dispersão em matriz em fase sólida (MSPD), neste caso podendo ser usadas amostras sólidas, como exemplo, tecidos de planta. Os autores destacam que uma das vantagens frente a métodos tradicionais é o uso reduzido de amostra e

solvente e redução do tempo de preparo. Também comentam que a hidrofobicidade do MIL facilitou a mistura do solvente com a amostra, facilitando a quebra da célula e extração do DNA (DE SILVA et al., 2023). Essa configuração de extração, a MSPD, também já foi utilizada para extração de pesticidas em amostras de alimentos (CHATZIMITAKOS et al., 2018). Neste caso o MIL é misturado junto a matriz e depois da adição de uma solução aquosa ele é recuperado e analisado (VARONA et al., 2021).

Outra estratégia proposta recentemente que busca facilitar a utilização de MILs em técnicas de extração é o uso de MILs formados *in situ*, ou seja, durante o processo de extração. Trujillo-Rodríguez e Anderson (2019a, 2019b) propuseram o uso de uma nova classe de MILs em que é usado um composto com centros metálicos de Ni(II) como cátion e o MIL é formado *in situ* e usado na DLLME. A estrutura desses MILs e a reação envolvida é apresentada na Figura 6.

Figura 6. Estrutura dos MILs *in situ* explorados por Trujillo-Rodríguez e Anderson (2019). Onde M representa Ni(II) e R os radicais benzil e butil

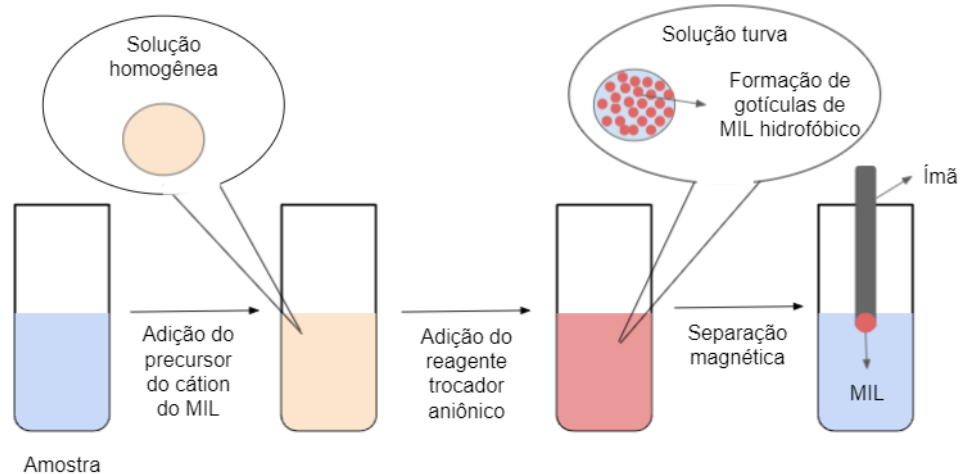


Fonte: Adaptado de Trujillo-Rodríguez; Anderson, 2019b.

Para isso, o precursor do cátion (CP) do MIL é adicionado na sua forma hidrofílica em uma solução aquosa na amostra, possuindo cloreto como contra íon, e em seguida é adicionado um reagente de troca aniônica, que neste caso foi selecionado o $[\text{NTf}_2]^-$, com isso o MIL hidrofóbico é formado durante o processo de extração. Esta estratégia só foi possível devido ao desenvolvimento de MILs em que o componente paramagnético se encontra no cátion, que não é trocado durante a reação. A Figura 7 é uma representação desse processo, depois que o reagente de

troca aniônica é adicionado, várias gotículas do MIL hidrofóbico são formados em solução, aumentando a área superficial da fase extratora (BOWERS et al., 2019).

Figura 7. Representação da formação *in situ* de MILs



Fonte: Autoria própria, 2024.

Esse ganho de área superficial da fase extratora pode levar a aumentos de eficiência de extração, inclusive Trujillo-Rodríguez e Anderson (2019a) comparam este novo formato com a DLLME convencional, em que o MIL é adicionado em sua forma hidrofóbica, e conseguem demonstrar as vantagens da formação *in situ*. Além disso, uma das grandes vantagens desse modo é que o MIL não precisa ser manipulado na sua forma hidrofóbica, que devido à sua alta viscosidade é em geral de difícil manipulação, ganhando em simplicidade de operação (BOWERS et al., 2019). Também há uma aplicação de formação *in situ* em que é utilizado como componente paramagnético um radical orgânico, sendo que os autores utilizam para determinar sulfonamidas em amostras de leite. Eles destacam a rapidez do processo de extração e sem precisar adicionar solventes orgânicos para a dispersão (YAO; DU, 2020), algo que foi necessário no trabalho de Trujillo-Rodríguez e Anderson (2019a). No entanto, é importante destacar que há poucos trabalhos referentes ao uso de MILs formados *in situ* e seu comportamento frente a amostras de alta complexidade, como é o caso de amostras alimentícias.

Além das aplicações para a DLLME, há relatos do uso de MILs na SDME. Essa combinação garante ainda maior estabilidade à gota, pois no lugar da seringa é possível utilizar um ímã e o solvente é estabilizado pela atração magnética, possibilitando o uso de gotas maiores, e garantindo maior estabilidade frente agitação

intensa e tempos de extração longos. Alguns autores também exploraram o uso de MILs no modo de HS-SDME utilizando auxílio de vácuo aplicado ao sistema, acelerando o processo de extração, isso só é possível graças também a estabilidade térmica e pressão de vapor negligenciável (CLARK et al., 2018). Recentemente Mafra *et al.* (2019) propuseram o uso do sistema de 96 poços de amostragem em que ímãs eram adaptados para sustentar a gota de MIL, possibilitando a extração simultânea de até 96 amostras, tendo ganhos significativos de frequência analítica. Além disso, os autores do trabalho destacam a aproximação da técnica de um sistema completamente automatizado, melhorando também questões relacionadas à precisão.

Clark e colaboradores (2015) compararam duas formas de extração que chamaram de extração em gota dispersiva (DDE) e extração em gota única (SDE) para a extração de DNA. A DDE é descrita de forma similar a DLLME, em que o MIL é adicionado na amostra e com a agitação é disperso em solução, já a SDE é similar a SDME, em que o MIL é suspenso em um ímã e exposto a amostra. Neste trabalho, as duas estratégias são comparadas, a DDE apresentou os melhores resultados e os autores ligam isso a menor área superficial do MIL para interação com DNA na SDE quando comparado com a DDE (CLARK et al., 2015).

Outra técnica utilizando MILs é a desenvolvida por Chisvert *et al.* (2017) conhecida como microextração líquida dispersiva e barra sortiva (SBDLME), que é um híbrido da SBSE e da DLLME. Neste caso, os autores utilizaram um ímã para agitação da amostra e quando o MIL é adicionado, é atraído pelo ímã quando nenhuma ou baixa agitação está sendo usada funcionando como uma SBSE. Já quando altas taxas de agitação são aplicadas, o solvente é disperso em solução, funcionando como uma DLLME. Estes autores também propuseram a análise por GC-MS. A injeção direta de extratos contendo MIL nesses instrumentos não é possível devido sua alta estabilidade, porém os autores exploram essa propriedade a seu favor utilizando dessorção térmica para introdução dos analitos no sistema de análise (CHISVERT et al., 2017). O uso de MILs formados *in situ* também foi explorado para essa técnica por Trujillo-Rodríguez e Anderson (2019b), em que eles usaram centros metálicos de Ni(II) e Co(II) como cátion paramagnético.

Dessa maneira, como pode-se perceber os MILs vêm sendo utilizados para diferentes finalidades, demonstrando vantagens como aumento da segurança do analista devido a sua baixa ou negligenciável pressão de vapor, além de trazer

melhorias para algumas técnicas como é o caso da DLLME e a SDME. Porém, eles ainda apresentam algumas limitações, como por exemplo, seu sinal de fundo nos sistemas de HPLC-DAD e sua viscosidade, que em geral é alta, o que afeta sua manipulação. Também é importante destacar a necessidade de desenvolvimento de metodologias de alta frequência analítica. A combinação de estratégias como o uso de MILs formados in situ com o uso do sistema de 96 poços de amostragem pode trazer diversas vantagens ao uso desses solventes, sendo que essa estratégia será explorada no presente trabalho.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Utilizar a formação *in situ* de MILs combinadas ao sistema de poços de amostragem para desenvolvimento de métodos analíticas de alta frequência analítica, denominada extração em gota dispersiva paralela (Pa-DDE), para a determinação de contaminantes orgânicos (contaminantes emergentes e hidrocarbonetos policíclicos aromáticos) em amostras de água e cachaça e rum por HPLC-DAD.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Sintetizar os precursores do cátion (CPs), $[\text{Co}(\text{C}_4\text{IM})_4]\text{Cl}_2$, $[\text{Ni}(\text{C}_4\text{IM})_4]\text{Cl}_2$ e $[\text{Ni}(\text{BeIM})_4]\text{Cl}_2$, e caracterizá-los por espectrometria de massas;
- Adaptar a formação *in situ* desses MILs ao sistema de 96 poços de amostragem;
- Avaliar a formação do MIL nas amostras selecionadas, avaliando a quantidade de metal que é remanescente na amostra após a extração utilizando espectrometria de absorção atômica em chama;
- Otimizar a separação cromatográfica dos analitos por HPLC-DAD;
- Otimizar as condições de extração para benzofenona, metolacoloro, triclocarban, 4-MBC, pendimentalina e EHMC em amostras de água por *in situ* MIL/Pa-DDE como tipo e quantidade de CP utilizado, tempo de extração, pH da amostra e efeito *salting out*;
- Otimizar as condições de extração para HPAs em amostras de cachaça por *in situ* MIL/Pa-DDE como tipo e quantidade de CP utilizado e tempo de extração;
- Construir curvas de calibração em amostras de água da torneira e solução hidroalcolica 40% (v/v) para obtenção dos parâmetros analíticos de mérito como limite de detecção e quantificação e coeficiente de determinação (R^2) para o método otimizado;
- Avaliar precisão e exatidão com ensaios de precisão interdia e intradia e recuperação relativa, respectivamente;
- Comparar principais características do método a outros da literatura.

4 SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DOS MILS UTILIZADOS

4.1 SÍNTESE DOS PRECURSORES DO CÁTION (CP) DO MIL HIDROFÓBICO

4.1.1 Materiais e reagentes

Foram utilizados cloretos metálicos de Co(II) e Ni(II) não hidratados (CoCl_2 e NiCl_2). Também foram adquiridos 1-butilimidazol e benzilimidazol com alto grau de pureza da Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA). Éter etílico PA para limpeza dos produtos sólidos.

4.1.2 Procedimento experimental

Neste trabalho foram utilizados como CPs dos MILs formados *in situ*: cloreto de tetrabutylimidazolníquel (II) ($[\text{Ni}(\text{C}_4\text{IM})_4]\text{Cl}_2$), cloreto de tetrabenzilimidazolníquel (II) ($[\text{Ni}(\text{BeIM})_4]\text{Cl}_2$) e cloreto de tetrabutylimidazolcobalto (II) ($[\text{Co}(\text{C}_4\text{IM})_4]\text{Cl}_2$), cujas estruturas são apresentadas no esquema da Figura 6. Estes compostos foram fornecidos pelo professor Jared L. Anderson e sua produção é descrita nos trabalhos de Chand et al. (2019) e Trujillo-Rodríguez e Anderson (2019a e 2019b). Conforme estes procedimentos, para a produção de $[\text{Ni}(\text{C}_4\text{IM})_4]\text{Cl}_2$ foi adicionado a um frasco de reação 4 mmol de cloreto de níquel (NiCl_2) e 16 mmol de N-butilimidazol em água. A reação foi mantida durante a noite em temperatura ambiente. Ao fim da reação, o solvente foi removido em pressão reduzida e o produto sólido foi seco em estufa a vácuo a 60 °C. Já para a produção de $[\text{Ni}(\text{BeIM})_4]\text{Cl}_2$, a reação também foi conduzida em água com 4 mmol de NiCl_2 e 16 mmol N-benzilimidazol, porém foi mantida a temperatura a 80 °C. Por fim, para a produção de $[\text{Co}(\text{C}_4\text{IM})_4]\text{Cl}_2$, foi adicionado cloreto de cobalto (CoCl_2) e N-butilimidazol em fração molar de 1:4, sendo a reação mantida a 100 °C por 24 horas. O produto foi resfriado por 2 horas e o produto sólido formado foi lavado com dietil éter e seco por 24 horas em estufa a 40 °C. A composição destes produtos foi avaliada com análises elementares e mostraram-se consistentes ao esperado.

4.2 CARACTERIZAÇÃO DOS MATERIAIS SINTETIZADOS

4.2.1 Materiais e Métodos

4.2.1.1 *Determinação da solubilidade do MIL hidrofóbico formado em diferentes amostras por Espectrometria de Absorção Atômica em Chama (FAAS)*

4.2.1.1.1 Materiais e reagentes

Para a quantificação dos metais remanescentes foram utilizadas soluções padrões de Co e Ni 1000 mg L⁻¹ da SpecSol e Merck, respectivamente. Além disso, foi utilizado água ultrapura e ácido clorídrico de alto grau de pureza.

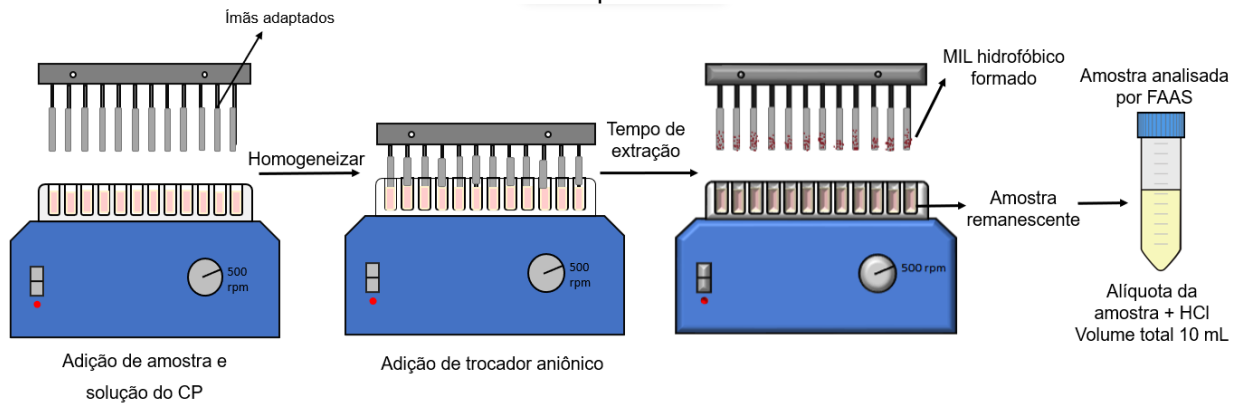
4.2.1.1.2 Instrumentação analítica

Foi utilizado um espectrômetro ContrAA 700 (AnalytikJena, Alemanha) com atomização em chama. Para detecção e quantificação de Co e Ni foram selecionados os comprimentos de onda de 240,725 nm e 232,003 nm, respectivamente. Para a quantificação dos analitos foram utilizadas curvas analíticas preparadas em solução aquosa acidificada em concentrações que variaram de 0,1 a 2 mg L⁻¹.

4.2.1.1.3 Preparo das amostras

Para a Pa-DDE a amostra foi adicionada a placas de poços de amostragem com capacidade de 2 mL seguida da adição de uma solução do precursor do cátion do MIL e do trocador aniônico. Após o tempo de extração estipulado, o MIL hidrofóbico formado foi atraído e coletado pelo ímã, e a amostra remanescente nos poços de amostragem foi coletada para posterior análise. Em seguida, uma alíquota dessa amostra foi diluída para um volume final de 10 mL com água ultrapura e 100 µL de ácido clorídrico. Para as amostras de cachaça foram utilizadas alíquotas de 30 µL e para as de água 100 µL. Um esquema para este procedimento é apresentado na Figura 8.

Figura 8. Procedimento de preparo de amostra Pa-DDE simplificado e preparo da amostra para análise por FAAS.



Fonte: Autoria própria, 2024.

Os resultados foram obtidos como a concentração em mg L^{-1} do metal, com isso foi possível calcular a massa de metal presente na alíquota diluída e, conseqüentemente a massa de metal remanescente na amostra. Por fim, foi transformado em porcentagem, utilizando a massa de metal inicialmente adicionada, sendo que esta foi a forma selecionada para apresentação dos resultados.

4.2.1.2 Espectrometria de massas

As medidas de espectrometria de massas foram obtidas por ionização via eletrospray (ESI-MS) no modo positivo, realizadas no equipamento Amazon- Ion trap MS do Centro de Biologia Molecular Estrutural da UFSC. Todas as amostras foram diluídas em acetonitrila grau MS. Primeiramente foram realizadas as medidas do CP selecionado em ambos os trabalhos desenvolvidos, conforme trabalhos apresentados nas seções 5 e 6, o $[\text{Co}(\text{C}_4\text{IM})_4]\text{Cl}_2$ na sua forma solúvel em água. Também foram feitas medidas do MIL hidrofóbico formado (o que é coletado no ímã) nas amostras utilizadas nos trabalhos apresentados nas seções 5 e 6, que são água e cachaça, respectivamente.

4.2.2 Resultados experimentais

4.2.2.1 *Determinação da solubilidade do MIL hidrofóbico formado em diferentes amostras por Espectrometria de Absorção Atômica em Chama (FAAS)*

Primeiramente, foi avaliado a aplicação desses materiais em amostras de água. Foi observado a formação e coleta do MIL visualmente, pela sua atração magnética no ímã. Em seguida, foi avaliada a quantidade de metal que sobrava na amostra após o procedimento e separação com o ímã. As condições destes experimentos e os resultados obtidos são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3. Comparação da solubilidade dos MILs na amostra durante o procedimento de preparo.

Condições de extração	[Co(C ₄ IM) ₄]Cl ₂	[Ni(C ₄ IM) ₄]Cl ₂	[Ni(BeIM) ₄]Cl ₂
Tempo de extração (min)	75	30	30
Massa de CP utilizada (mg)	4	3	3
Proporção molar CP:LiNTf ₂	1:2	1:2	1:2
Porcentagem do metal que permaneceu na amostra (±desvio padrão)	30,6 (±5,1)	30,1 (±2,3)	30,3 (±0,3)

Fonte: Autoria própria, 2023.

Como se pode ver os três materiais se comportaram de forma similar, em que cerca de 30% do metal inicialmente adicionado ainda permanecia na amostra após o procedimento de extração. Um estudo similar foi realizado por Bowers et al. (2019) para estes mesmos MILs. Os autores reportam resultados diferentes, sendo 38,8% para [Co(C₄IM)₄]Cl₂, 58,8% para [Ni(C₄IM)₄]Cl₂ e 46,7% para [Ni(BeIM)₄]Cl₂. Esses valores são ligeiramente diferentes do que os encontrados no presente trabalho podendo estar relacionado com a proporção entre a quantidade de material adicionado e a quantidade de amostra, uma vez que esse metal pode ser proveniente de uma reação com rendimento inferior a 100% entre o CP e o trocador aniônico, mas também pode refletir uma solubilidade parcial do MIL formado na amostra.

Em seguida, a fim de demonstrar a aplicação do método e dessa classe de MILs, algumas amostras foram exploradas, dentre elas café, chá, leite, urina e saliva. Em algumas dessas amostras não foi percebida visualmente a formação do MIL hidrofóbico, em outras seu aspecto visual era diferente do obtido em solução aquosa. Essas variações poderiam ser decorrentes de outros componentes da amostra que

podem interagir com o CP ou podem estar relacionados com a maior solubilidade do MIL formado nessas amostras quando comparado com água.

Por fim, foi possível realizar a formação do MIL hidrofóbico em uma amostra de cachaça e essa foi selecionada para mais aplicações do método desenvolvido. Na amostra de cachaça, foram testados somente $[\text{Co}(\text{C}_4\text{IM})_4]\text{Cl}_2$ e $[\text{Ni}(\text{C}_4\text{IM})_4]\text{Cl}_2$, pois somente esses CPs foram estudados para essa amostra conforme indicado também na seção 6. O CP $[\text{Ni}(\text{BeIM})_4]\text{Cl}_2$ não foi estudado nesta amostra por conta de sua baixa solubilidade em água dificultando seu uso na técnica de Pa-DDE. Os resultados e condições experimentais são apresentados na Tabela 4.

Tabela 4. Solubilidade do MIL formado em amostra de cachaça

Condições de extração	$[\text{Co}(\text{C}_4\text{IM})_4]\text{Cl}_2$	$[\text{Ni}(\text{C}_4\text{IM})_4]\text{Cl}_2$
Tempo de extração (min)	45	45
Massa de CP utilizada (mg)	7	7
Proporção molar CP:LiNTf ₂	1:2	1:2
Porcentagem do metal que permaneceu na amostra (\pm desvio padrão)	24,0 (\pm 3,5)	40,4 (\pm 2,9)

Fonte: Autoria própria, 2023.

Os dois CPs estudados apresentaram resultados bem diferentes entre si, podendo estar relacionado com as questões citadas anteriormente. Esses resultados podem ser utilizados para explicar possíveis diferenças de eficiência de extração desse material, pois isso também está relacionado com a quantidade de MIL recuperada pelo ímã.

A fim de realizar uma comparação entre as amostras utilizadas, foram comparados o uso dessas duas amostras nas mesmas condições de extração para o CP selecionado para ambos, $[\text{Co}(\text{C}_4\text{IM})_4]\text{Cl}_2$, conforme apresentado na Tabela 5. A seleção deste MIL foi baseada em estudos comparativos e seus resultados são apresentados nas seções 5.3.1 e 6.3.1. Também foi realizado um teste deste MIL em cachaça com as condições encontradas como ótimas em planejamentos de experimentos para essa amostra, os resultados e discussões dessas condições se encontram na seção 6.3, e o resultado do estudo de quantidade de metal remanescente na amostra também é apresentado na Tabela 5.

Tabela 5. Comparação entre a solubilidade do MIL de $[\text{Co}(\text{C}_4\text{IM})_4]\text{Cl}_2$ em amostras de água e cachaça.

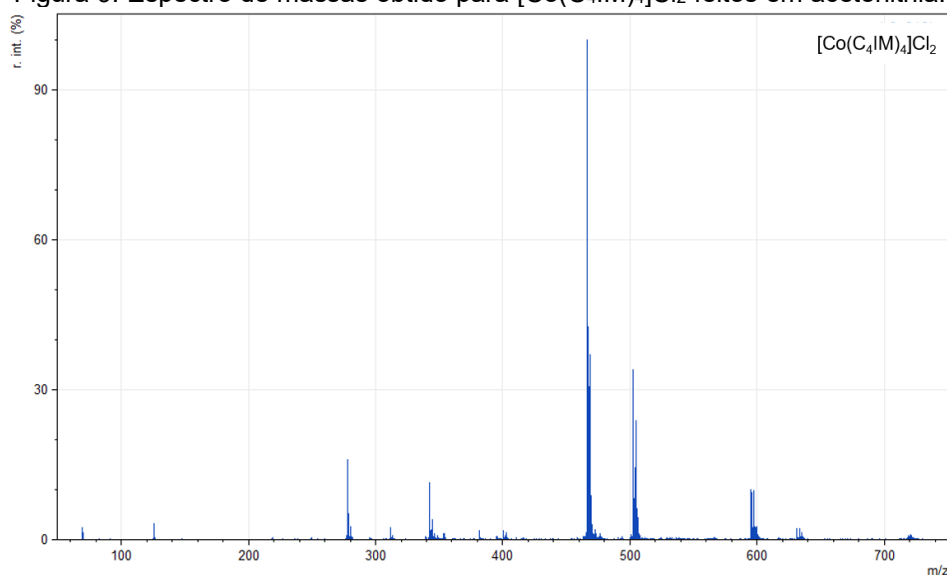
Condições de extração	Água	Cachaça	Cachaça (condição ótima)
Tempo de extração (min)	75	75	90
Massa de CP utilizada (mg)	4	4	10
Proporção molar CP: LiNTf_2	1:2	1:2	1:2
Porcentagem do metal que permaneceu na amostra (\pm desvio padrão)	30,4 (\pm 5,0)	42,3 (\pm 3,6)	24,5 (\pm 0,4)

Fonte: Autoria própria, 2023.

Como pode-se ver nos resultados apresentados na Tabela 5, utilizando uma massa menor de CP, a amostra de cachaça apresentou uma porcentagem de metal maior (42,3%) que a obtida em água (30,4%) o que pode estar relacionado com os fatores já citados acima como maior solubilidade em cachaça do que água, possivelmente relacionada com a maior proporção de fase orgânica (etanol) na amostra, assim como pode estar relacionada a um menor rendimento da reação de formação de MIL. Nota-se também, pelos resultados apresentados na Tabela 5, que quando uma massa maior de CP é adicionada, essa porcentagem é reduzida para 24,5% o que pode estar ligado a um limite de solubilidade do MIL formado na amostra.

4.2.2.2 *Espectrometria de massas*

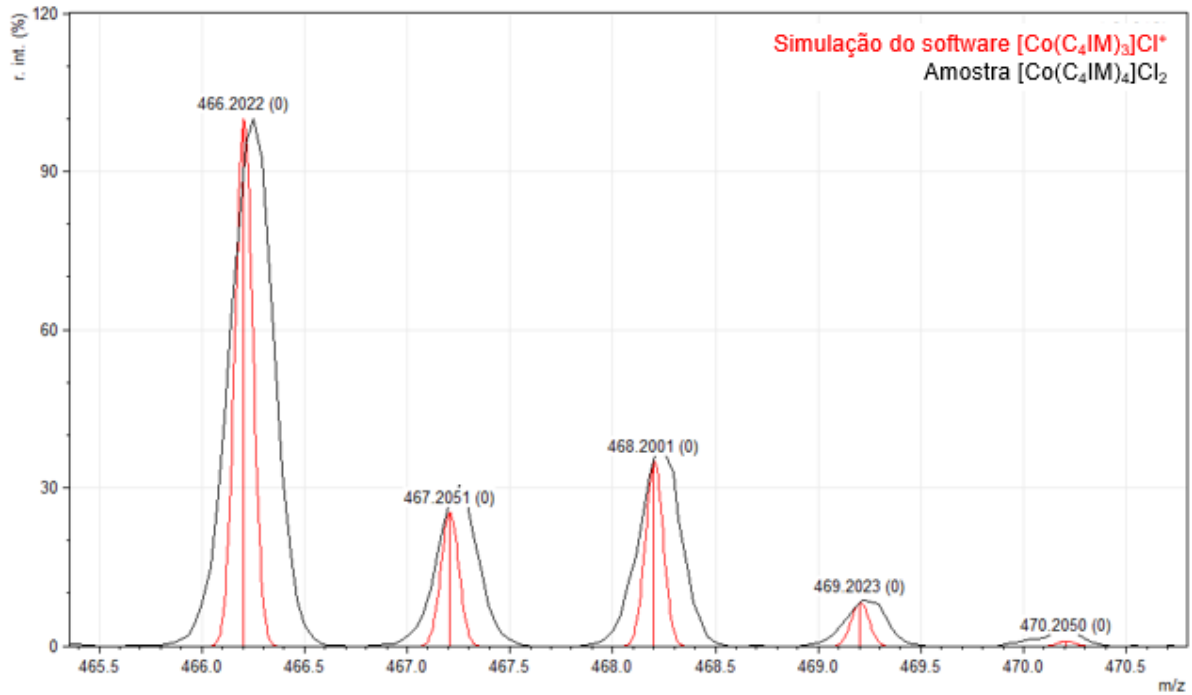
As medidas de espectrometria de massas foram realizadas no Centro de Biologia Molecular Estrutural da UFSC. Os resultados de espectrometria de massas para o material sintetizado, $[\text{Co}(\text{C}_4\text{IM})_4]\text{Cl}_2$, o CP selecionado nas seções 5 e 6, é apresentado na Figura 9.

Figura 9. Espectro de massas obtido para $[\text{Co}(\text{C}_4\text{IM})_4]\text{Cl}_2$ feitos em acetonitrila.

Fonte: Autoria própria, 2023.

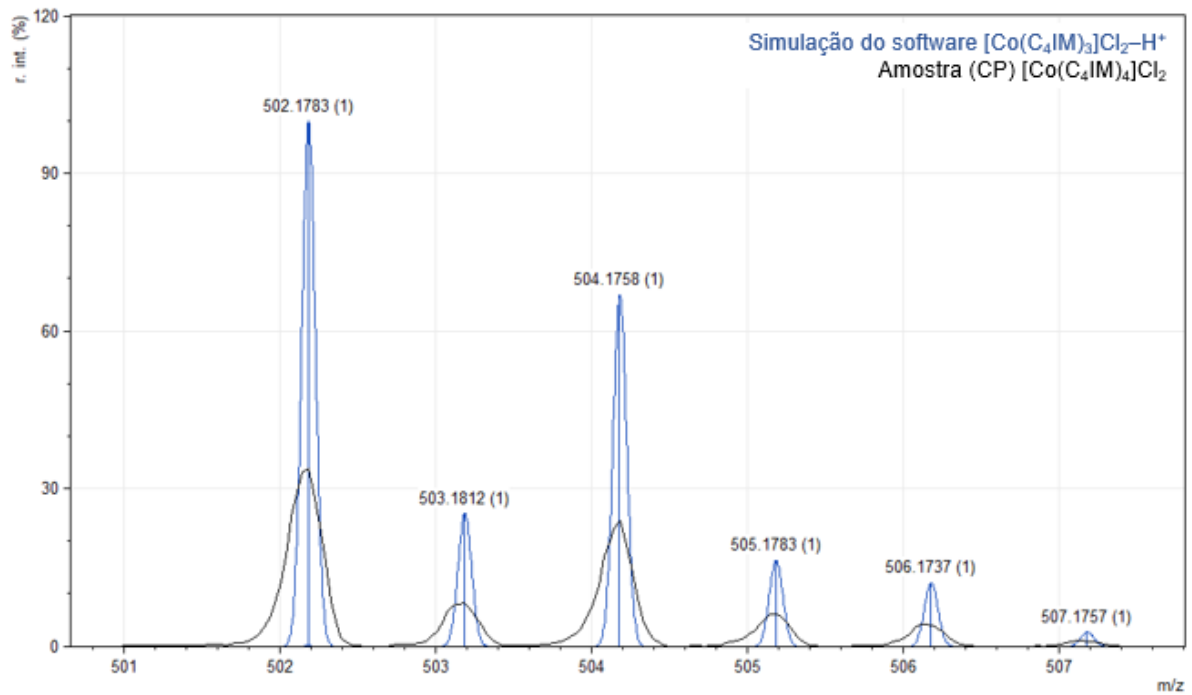
Os principais fragmentos foram identificados como pertencentes ao complexo de Co com 4 ligantes n-butilimidazol como o m/z 277, ao complexo com 3 ligantes n-butilimidazol e um cloro como m/z 466 e ao complexo com 3 ligantes n-butilimidazol e 2 cloros como m/z 502. Nas Figura 10, 11 e 12 são apresentados a distribuição isotópica desses fragmentos e como comparação tem-se a distribuição isotópica fornecida pelo *software* mMass para as estruturas sugeridas. Como pode-se ver as distribuições são bastante similares aos fragmentos obtidos. Confirmando a composição do complexo utilizado.

Figura 10. Representação da comparação do fragmento de razão massa carga de 466 com a distribuição isotópica para as estruturas propostas.



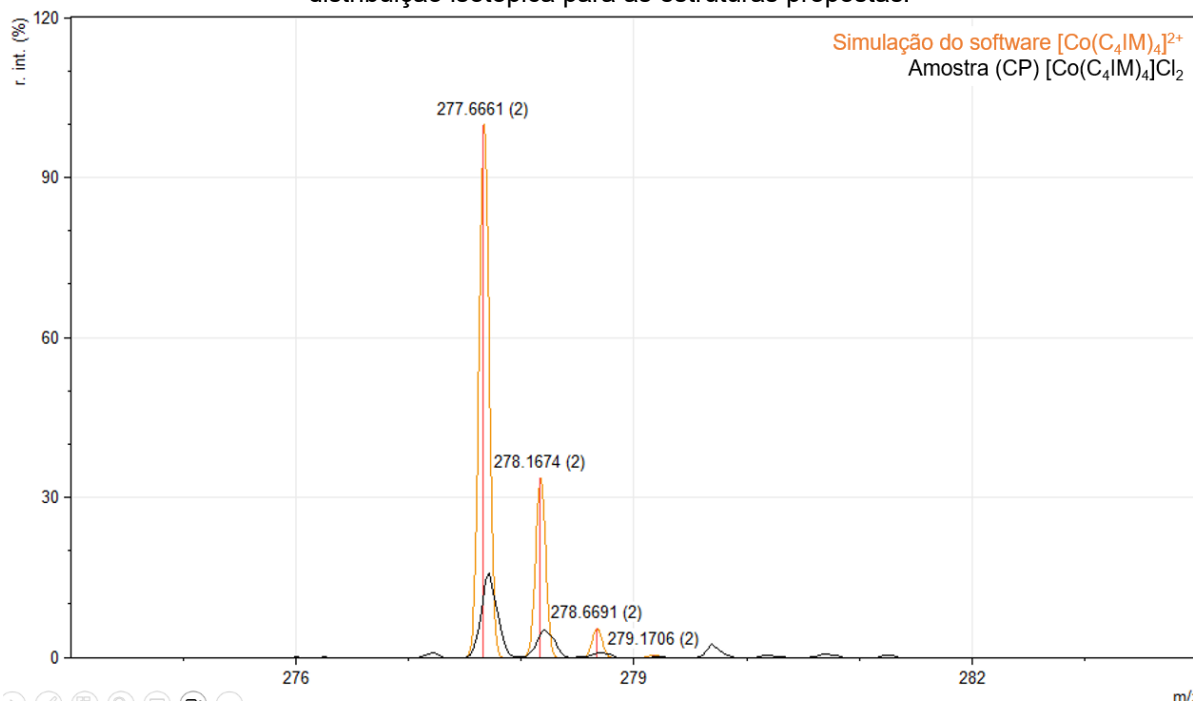
Fonte: Autoria própria, 2023.

Figura 11. Representação da comparação do fragmento de razão massa carga de 502 com a distribuição isotópica para as estruturas propostas.



Fonte: Autoria própria, 2023.

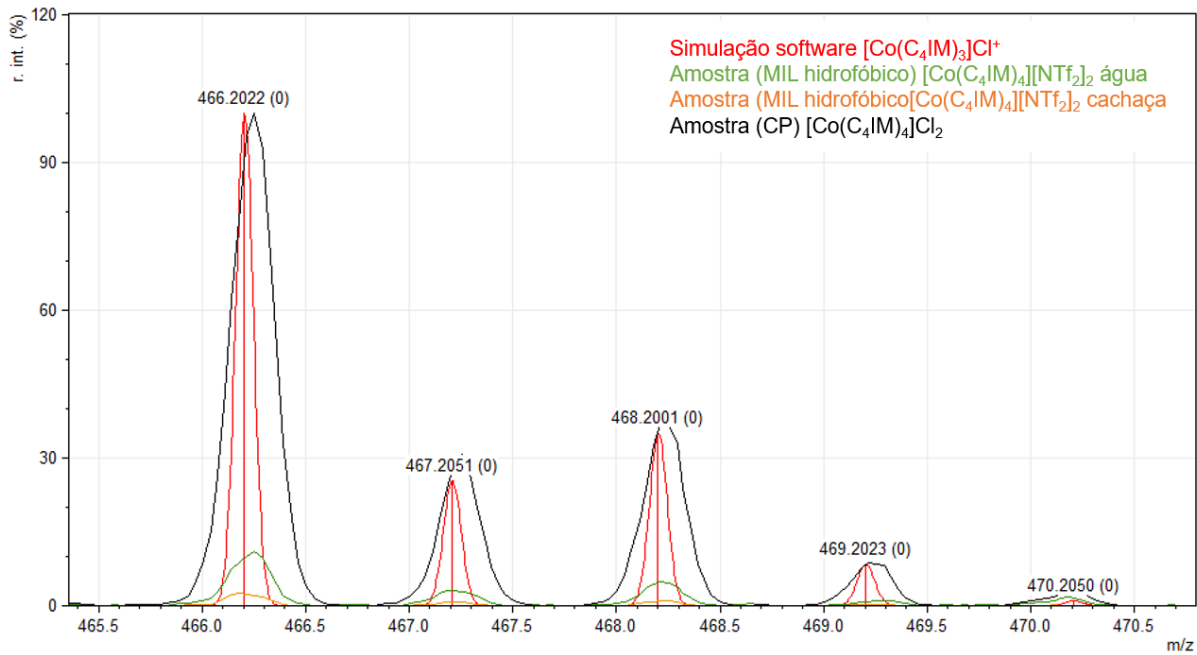
Figura 12. Representação da comparação do fragmento de razão massa carga de 277 com a distribuição isotópica para as estruturas propostas.



Fonte: Autoria própria, 2023.

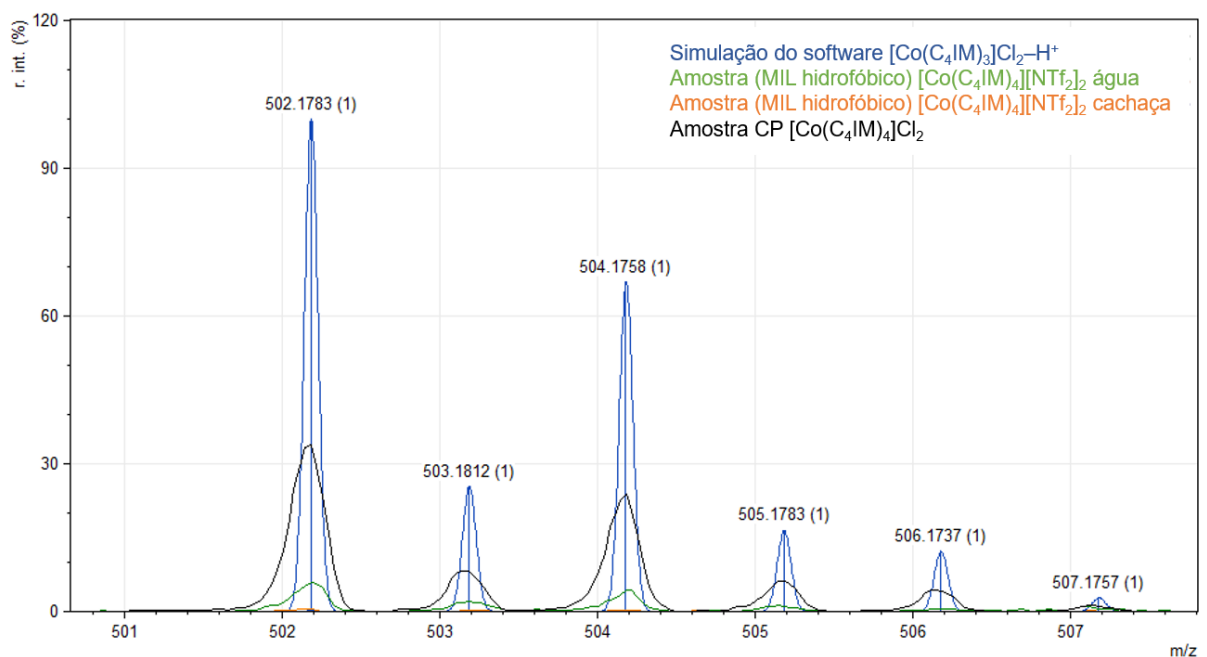
Além disso, foram realizadas a análise do MIL hidrofóbico formado em ambas as amostras, água e cachaça. Nota-se que os fragmentos em que é possível observar o cloro, há um decréscimo significativo, o que pode estar relacionado com a sua substituição pelo [NTf₂]⁻. Também é possível ver nesses espectros o fragmento 277 proveniente do complexo de cobalto e quatro ligantes n-butilimidazol. As Figuras 13, 14 e 15 apresentam esses espectros de massa.

Figura 13. Representação da comparação para a razão massa carga 466 com a distribuição isotópica para as estruturas propostas antes e após a reação *in situ*.



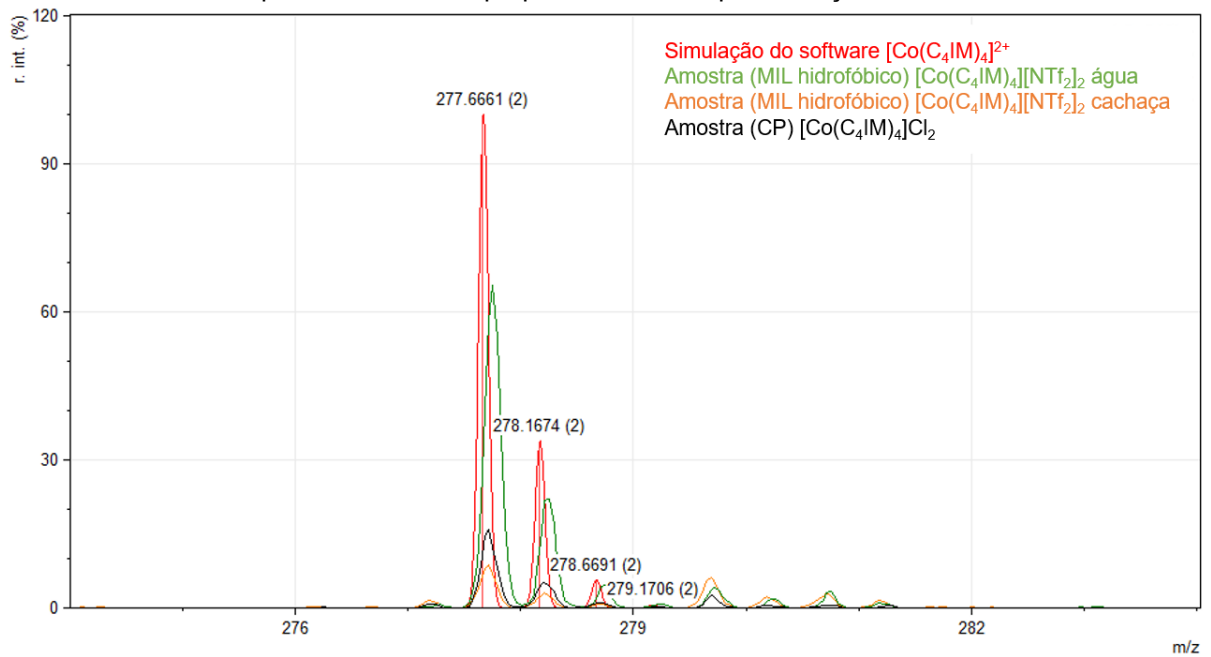
Fonte: Autoria própria, 2023.

Figura 14. Representação da comparação para a razão massa carga 502 com a distribuição isotópica para as estruturas propostas antes e após a reação *in situ*.



Fonte: Autoria própria, 2023.

Figura 15. Representação da comparação para a razão massa carga 277 com a distribuição isotópica para as estruturas propostas antes e após a reação *in situ*.



Fonte: Autoria própria, 2023.

5 MÉTODO DE ALTA FREQUÊNCIA ANALÍTICA PARA FORMAÇÃO *IN SITU* DE LÍQUIDOS IÔNICOS MAGNÉTICOS APLICADOS A EXTRAÇÃO EM GOTA DISPERSIVA PARALELA PARA ANÁLISE DE CONTAMINANTES ORGÂNICOS EM AMOSTRAS DE ÁGUA

Este trabalho está publicado na revista *Talanta*, volume 223 em 2021.

5.1 INTRODUÇÃO

A análise de amostras ambientais é uma ferramenta extremamente importante para averiguar e monitorar os riscos de contaminação, uma vez que alguns contaminantes podem representar diversos problemas aos ecossistemas e à saúde humana. Porém essas amostras podem configurar um desafio devido a sua complexidade, que pode vir a ser uma fonte de incompatibilidade com o sistema de análise e não permitir a análise direta, e a possibilidade dos analitos se encontrarem em concentrações muito baixas, também não permitindo a análise direta dessas amostras. Dessa maneira, uma etapa de preparo de amostras é praticamente necessária a fim de alcançar resultados confiáveis (CARASEK; MORÉS; MERIB, 2018; LLAVER et al., 2021).

Diversas estratégias de preparo vêm sendo usadas para a análise de amostras ambientais, sendo uma delas o uso de materiais extratores alternativos como os ILs e MILs, que podem trazer diversas vantagens, relacionadas principalmente a possibilidade de produção de materiais para tarefas específicas e no caso dos MILs a facilidade de recuperação da fase extratora. Porém, as mesmas propriedades que os tornam atrativos também podem trazer algumas dificuldades e limitações, como a alta viscosidade que os tornam materiais de difícil manipulação. Porém, com a introdução de MILs hidrofóbicos que podem ser formados *in situ*, proposta por Trujillo-Rodríguez e Anderson (2019a, 2019b), este problema pode ser evitado.

Outra questão relacionada ao preparo de amostras é o desenvolvimento de métodos com elevada frequência analítica e redução da manipulação humana. No caso do uso de MILs como fase extratora se tem o exemplo do trabalho de Mafrá *et al.* (2019) em que o uso desse material foi adaptado a um sistema de 96 poços de amostragem e que traz essas vantagens ao uso dessas fases extratoras em técnicas de extração. Essa estratégia permite a análise de até 96 amostras simultaneamente,

garantindo alta frequência analítica e baixa manipulação humana, uma vez que o sistema utilizado é semi-automatizado contendo agitação integrada, porém há a possibilidade de uso de sistemas completamente automatizados, como destacado pelos autores do trabalho.

Dessa forma, o presente trabalho busca integrar essas duas estratégias para o uso de MILs em técnicas de extração. Foram selecionados como analitos modelo benzofenona (BZF), metolacloro (MTC), triclocarban (TCC), pendimentalina (PDM), 4-metilbenzimidene cânfora (4-MBC) e 2-etilhexil-4-metoxicinamato (EHMC). Foram usados como precursores do cátion do MIL centros metálicos de Co(II) e Ni(II) coordenados com grupos imidazóis, cuja estrutura pode ser exemplificada na Figura 6, apresentada na seção 2.4.1.1, e como trocador aniônico o bis(trifluorometilsulfonil)imida de lítio (Li(NTf₂)) em conjunto com o sistema de 96 poços de amostragem com adaptação com ímãs, a fim de coletar o MIL que é formado em solução durante o processo de extração. Essa combinação, denominada de extração em gota dispersiva paralela (Pa-DDE) foi explorada para a determinação de benzofenona (BZF), metolacloro (MTC), triclocarban (TCC), pendimentalina (PDM), 4-metilbenzimidene cânfora (4-MBC) e 2-etilhexil-4-metoxicinamato (EHMC) em amostras de água.

Esses analitos podem contaminar amostras de água por diferentes meios e representam um risco a saúde humana e ao meio ambiente. BZF, 4-MBC e EHMC são utilizados em protetores solares como filtros UV (CARVE et al., 2021). Carve et al. (2021) reporta que quando em altas concentrações esses compostos representam um alto risco a ecossistemas marinhos. TCC é utilizado um antimicrobiano que vêm sendo monitorado em alguns países por seus possíveis efeitos como disruptor endócrino, além de poder contribuir para a formação de bactérias resistentes a antibióticos (MAFRA et al., 2018). Não foi encontrada limites na legislação brasileira para estes analitos. PDM e MTC são utilizados como agrotóxicos, os quais são utilizados para aumento da produtividade das plantações ao realizar o controle de pestes. Esses compostos vêm sendo reportados em amostras de água em concentrações que variam de ng L⁻¹ a µg L⁻¹ (BROVINI et al., 2023). Para amostras de água potável é definido um valor máximo permitido na legislação brasileira somente para metolacloro, sendo de 10 µg L⁻¹ (BRASIL, 2021).

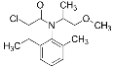
5.2 MATERIAIS E MÉTODOS

5.2.1 Reagentes e materiais

Padrões analíticos de alto grau de pureza (>98%) dos analitos selecionados neste estudo, cuja estrutura e principais propriedades são apresentados na Tabela 6, e de LiNTf_2 foram adquiridos da Sigma-Aldrich. Foram adquiridos metanol e acetonitrila grau HPLC da Merck. Água ultrapura ($18,2 \text{ M}\Omega \text{ cm}$) foi obtida com um sistema de purificação Mega Purity (Billerica, MA, USA). Para ajuste de pH, foi utilizado um tampão Britton-Robinson (BR) $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ e soluções de ácido clorídrico (3 mol L^{-1}) e hidróxido de sódio (1 mol L^{-1}), obtidos da VETEC (Rio de Janeiro, Brasil). Para a produção dos precursores dos cátions foram utilizados sais dos metais hidratados, 1-benzilimidazol e 1-butylimidazol obtidos da Sigma Aldrich.

Soluções estoques individuais dos analitos foram produzidas em metanol com concentração entre 1 e 10 g L^{-1} . Essas soluções foram utilizadas para a produção de uma solução de trabalho contendo uma mistura dos analitos a 50 mg L^{-1} cada em acetonitrila. Soluções de trabalho de LiNTf_2 de 92 g L^{-1} foram preparadas em água ultrapura. As soluções de trabalho dos cátions precursores foram de 10 g L^{-1} para o estudo de seleção do MIL e para as próximas otimizações foram usadas soluções de 25 e 40 g L^{-1} do CP selecionado.

Tabela 6. Estrutura e propriedades dos analitos selecionados para este trabalho.

Analito	pKa	Log P	Uso	Estrutura química
BZF	-	3,18 ^a	Filtro UV	
MTC	-	3,13 ^a	Herbicida	
TCC	12,7 ^a	4,34 ^a	Antisséptico	
PDM	10,52 ^b	5,20 ^a	Herbicida	
4-MBC	-	4,95 ^c	Filtro UV	
EHMC	-	6,10 ^a	Filtro UV	

^aObtido de Pubchem; ^bObtido de Chemcalize; ^cGago-Ferrero; Díaz-Cruz; Barceló, 2015

Fonte: Autoria própria, 2021.

Para a curva de calibração foi coletada amostra de água de torneira em frasco âmbar limpo. As amostras utilizadas posteriormente para aplicação do método e ensaios de exatidão foram coletadas de 3 locais, 2 amostras de córregos da UFSC em Florianópolis, denominadas amostras A e C, e uma amostra coletada de um rio na cidade de Rodeio (Santa Catarina) denominada amostra B. Essas amostras também foram coletadas em frascos âmbar limpos e armazenadas refrigeradas até análise.

5.2.2 Instrumentação

Para a análise dos extratos foi utilizado um cromatógrafo líquido da Shimadzu modelo LC-20 AT, com sistema de detecção por arranjo de diodos (DAD) SPD-20, equipado com sistema de injeção manual da Rheodyne com loop de 20 μL . A separação foi realizada em uma coluna Agilent Zorbax C18 (5,0 μm , 4,6 mm, 250 mm) utilizando acetonitrila (A) e água ultrapura (B), como fase móvel com fluxo de 1 mL min^{-1} . Trujillo-Rodríguez e Anderson (2019a) utilizaram MILs similares aos utilizados neste trabalho e eles sugerem que a fim de garantir a solubilidade do MIL na fase móvel se utilize quantidades de ACN no início da corrida acima de 55%. Portanto, inicialmente foi mantido 65% de A e 35% de B por 4 minutos, em seguida A foi aumentado para 93% de 4 a 5 minutos e em seguida aumentado novamente para 100% de 5 a 8 minutos e mantida até 18 minutos de análise. Logo após, foi adotado um procedimento de limpeza entre corridas em que o fluxo era aumentado para 1,5 mL min^{-1} e 100% de A era mantido por 5 minutos, em seguida 98% de B era mantido por mais 5 minutos a esse fluxo. Após, a condição inicial era restabelecida antes da próxima injeção. Os comprimentos de onda selecionados no DAD para detecção e quantificação foram: 250 nm para BZF, 200 nm para MTC, 270 nm para TCC, 245 nm para PDM e 300 nm para 4-MBC e EHMC. Também foi utilizado um sistema de 96-well plate semi-automático adquirido da Brüder Mannesmann Werkzeuge (Reimscheid, NRW, Alemanha) e ímãs de neodímio (N35, 3 mm \times 8,5 mm, 0,595 T) adquiridos da Ímã Shop (São Paulo, Brasil). Estes ímãs foram adaptados aos pinos do pente de 96-well plate com auxílio de *Parafilme*.

5.2.3 Otimização do procedimento de extração

Para a otimização do procedimento de extração foram avaliados parâmetros como seleção do CP do MIL, massa de MIL, tempo de extração, adição de sal e ajuste de pH por meio de experimentos univariados e multivariados. Para a avaliação dos experimentos realizados de forma univariada, foram feitos em triplicata em cada uma das condições selecionadas e avaliados com a produção de gráficos de barras com a média das respostas normalizadas para cada analito, com auxílio do software Excel. Já para a avaliação dos procedimentos multivariados, foi utilizada a média geométrica da área dos picos dos analitos em cada experimento e com o auxílio do *software* Statsoft Statistica foi possível a produção de gráficos para a avaliação dos resultados.

Primeiramente, foi avaliada a eficiência de extração de cada um dos CPs do MIL de forma univariada. Estes experimentos foram conduzidos com soluções de 10 g L⁻¹ de cada um dos CPs, que foram adicionados a amostra de forma que fosse formado 5 mg do MIL correspondente, baseando-se que o MIL formado possuía uma fração molar de 1 CP: 2 [NTf₂] conforme estudos prévios realizados por (Trujillo-Rodríguez e Anderson (2019a, 2019b). Em seguida, foi realizado um planejamento fatorial completo a fim de realizar uma triagem dos principais parâmetros que poderiam afetar a eficiência do método. Para isso, foram selecionadas as seguintes variáveis: massa de CP adicionada (3 – 12 mg), tempo de extração (15 – 45 minutos), concentração de NaCl na amostra (0 – 10% m/v) e ajuste de pH da amostra (3 – 9) e os experimentos são apresentados na Tabela 7.

Tabela 7. Experimentos do planejamento fatorial completo in situ MIL Pa-DDE.

Experimento	Massa de CP	Tempo de extração	%NaCl (m/v)	pH
	(mg)	(min)		
1	12 (+1)	15 (-1)	0 (-1)	3 (-1)
2	12 (+1)	15 (-1)	0 (-1)	9 (+1)
3	3 (-1)	15 (-1)	0 (-1)	9 (+1)
4	3 (-1)	15 (-1)	0 (-1)	3 (-1)
5	3 (-1)	15 (-1)	10 (+1)	9 (+1)
6	12 (+1)	15 (-1)	10 (+1)	3 (-1)
7	12 (+1)	15 (-1)	10 (+1)	9 (+1)
8	3 (-1)	15 (-1)	10 (+1)	3 (-1)
9	7,5 (0)	30 (0)	5 (0)	6 (0)
10	7,5 (0)	30 (0)	5 (0)	6 (0)
11	7,5 (0)	30 (0)	5 (0)	6 (0)
12	7,5 (0)	30 (0)	5 (0)	6 (0)

Tabela 7. Experimentos do planejamento fatorial completo in situ MIL Pa-DDE.(continuação)

Experimento	Massa de CP (mg)	Tempo de extração (min)	%NaCl (m/v)	pH
13	12 (+1)	45 (+1)	0 (-1)	9 (+1)
14	12 (+1)	45 (+1)	0 (-1)	3 (-1)
15	3 (-1)	45 (+1)	0 (-1)	3 (-1)
16	3 (-1)	45 (+1)	0 (-1)	9 (+1)
17	3 (-1)	45 (+1)	10 (+1)	3 (-1)
18	12 (+1)	45 (+1)	10 (+1)	9 (+1)
19	3 (-1)	45 (+1)	10 (+1)	9 (+1)
20	12 (+1)	45 (+1)	10 (+1)	3 (-1)

Fonte: autoria própria, 2021.

A partir das variáveis consideradas significativas neste experimento, foi proposto um planejamento Box-Behnken para seleção das condições ótimas destas variáveis. Portanto, foi avaliado a massa de CP adicionada de 3 a 5 mg, tempo de extração de 45 a 105 minutos e concentração de sal da amostra de 0 a 10% (m/v), sendo os experimentos realizados apresentados na Tabela 8. Estes experimentos foram realizados utilizando 1,25 mL de amostra fortificadas com 300 $\mu\text{g L}^{-1}$ de cada um dos analitos e 125 μL da solução de CP (de 10, 25 e 40 g L^{-1}) e 100 μL da solução de LiNTf_2 de concentrações variadas.

Tabela 8. Experimentos do planejamento Box Behnken in situ MIL Pa-DDE.

Experimento	Massa de CP (mg)	Tempo de extração (min)	%NaCl (m/v)
1	5 (+1)	45 (-1)	5 (0)
2	3 (-1)	45 (-1)	5 (0)
3	4 (0)	45 (-1)	10 (+1)
4	4 (0)	45 (-1)	0 (-1)
5	4 (0)	75 (0)	5 (0)
6	3 (-1)	75 (0)	10 (+1)
7	5 (+1)	75 (0)	10 (+1)
8	4 (0)	75 (0)	5 (0)
9	5 (+1)	75 (0)	0 (-1)
10	4 (0)	75 (0)	5 (0)
11	3 (-1)	105 (+1)	5 (0)
12	4 (0)	105 (+1)	0 (-1)
13	4 (0)	105 (+1)	10 (+1)

Tabela 8. Experimentos do planejamento Box Behnken in situ MIL Pa-DDE. (continuação)

Experimento	Massa de CP (mg)	Tempo de extração	%NaCl (m/v)
		(min)	
14	5 (+1)	105 (+1)	5 (0)
15	3 (-1)	75 (0)	0 (-1)

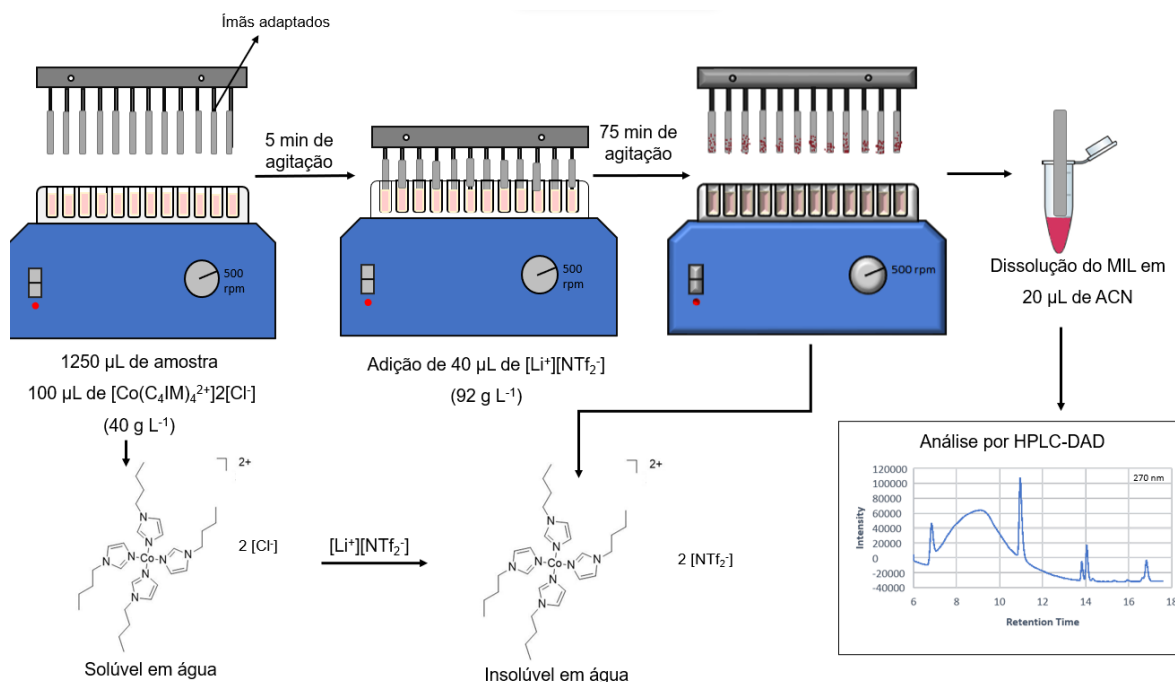
Fonte: autoria própria, 2021.

Por fim, foi realizado um estudo para avaliar a eficiência de extração mediante a adição ou não de um solvente dispersor. Estes experimentos foram realizados de forma univariada com 1,25 mL de amostra fortificada a $300 \mu\text{g L}^{-1}$ de cada um dos analitos com as condições previamente selecionadas. Dessa maneira, após a adição do CP, foi adicionado 60 μL de acetonitrila, metanol ou acetona a amostra que foi mantida sob agitação por 5 minutos. Então, foi adicionada a solução de LiNTf_2 e a agitação foi mantida pelo tempo estabelecido anteriormente. Os resultados destes experimentos foram comparados com os resultados obtidos sem a adição de solvente.

5.2.4 Procedimento otimizado de Pa-DDE

Conforme o esquema apresentado na Figura 16, primeiro 1,25 mL de amostra foi adicionado aos poços da placa de 96-well plate de capacidade de 2 mL, em seguida foi adicionado 100 μL de uma solução aquosa de $[\text{Co}(\text{C}_4\text{IM})_4]\text{Cl}_2$ 40 g L^{-1} em cada um dos poços. O sistema foi mantido sob agitação orbital por 5 minutos. Após, foi acrescentado em cada um dos poços 40 μL de uma solução aquosa de LiNTf_2 (92 g L^{-1}) com auxílio de um micropipetador multicanal, então, os pentes adaptados com ímãs foram colocados em contato com a solução e a agitação foi restabelecida e mantida por 75 minutos. Ao fim desse tempo, os ímãs eram recolhidos e os MILs coletados eram diluídos em 20 μL de acetonitrila e esse extrato foi injetado no sistema de HPLC-DAD.

Figura 16. Esquema do procedimento experimental.



Fonte: Adaptado de Will et al., 2021

5.2.5 Determinação dos parâmetros analíticos de mérito

Utilizando o método otimizado, curvas de calibração foram construídas usando uma amostra de água da torneira fortificadas em cinco níveis de concentração, realizados em triplicata. Com isso foi possível obter a faixa linear de trabalho, coeficiente de determinação (R^2) e os limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ). O LOQ foi considerado o primeiro ponto da faixa linear de trabalho com precisão adequada ($\leq 20\%$) e LOD foi calculado como a razão entre LOQ e 3,33 (MAFRA et al., 2019; PIERRI et al., 2022).

Em seguida foram realizados estudos de precisão intradia e interdia, sendo realizados em três níveis de concentração para cada analito (LOQ, 150 e 500 µg L⁻¹) feitos em triplicata no mesmo dia ($n=3$) e em um nível de concentração (150 µg L⁻¹) feito em triplicata em três dias diferentes ($n=9$). Estes resultados foram expressos e avaliados como o desvio padrão relativo (RSD) da medida de área cromatográfica para cada um dos analitos. A exatidão, por sua vez, foi avaliada com ensaios de recuperação relativa realizados com 3 amostras diferentes, sendo coletadas duas amostras (A e C) de pontos diferentes de um córrego localizado no campus da UFSC (Florianópolis, Santa Catarina) e uma amostra de um rio da cidade de Rodeio (B)

(Santa Catarina). Essas amostras foram fortificadas em três níveis de concentração (LOQ, 150 e 500 $\mu\text{g L}^{-1}$) e esses ensaios foram realizados em triplicata. Também foi determinado o fator de enriquecimento (EF) obtido com o procedimento de preparo de amostra proposto. Para isso foi feita a análise da injeção direta (C_0) de uma solução de água ultrapura fortificada com 500 $\mu\text{g L}^{-1}$ de cada um dos analitos e de um extrato obtido da extração dessa mesma solução (C_{mil}). Com isso EF foi calculado como a razão das áreas cromatográficas obtida em C_{mil} e C_0 (MAFRA et al., 2019).

Por fim, o método de Youden foi utilizado a fim de averiguar a robustez do método. Para isso, parâmetros que podem afetar a eficiência de extração do método são selecionados e pequenas variações da condição ótima são realizadas, e essas variações para diferentes parâmetros são combinadas em oito experimentos (LEONARDI et al., 2015). No presente trabalho foi avaliado o volume de $[\text{Co}(\text{C}_4\text{IM})_4]\text{Cl}_2$ (40 g L^{-1}) e de LiNTf_2 (92 g L^{-1}), o tempo de agitação realizado entre a adição do CP e da solução de LiNTf_2 , assim como tempo de extração, volume de amostra e de acetonitrila. Estes experimentos são apresentados na Tabela 9 e foram realizados com soluções de água ultrapura fortificada com 300 $\mu\text{g L}^{-1}$ de cada um dos analitos e para a avaliação dos resultados foi representado pelo método de Lenth utilizando a média geométrica da área cromatográfica dos analitos em cada um dos experimentos.

Tabela 9. Experimentos realizados para o teste de robustez

Experimento	Volume da solução de [Co(C ₄ IM) ₄]Cl ₂ (μL)	Volume da solução de LiNTf ₂ (μL)	Tempo de dispersão (min)	Tempo de extração (min)	Volume de amostra (mL)	Volume de ACN (μL)
1	100	42	6	78	1,3	22
2	100	42	4	78	1,2	18
3	100	38	6	72	1,3	18
4	100	38	4	72	1,2	22
5	95	42	6	72	1,2	22
6	95	42	4	72	1,3	18
7	95	38	6	78	1,2	18
8	95	38	4	78	1,3	22

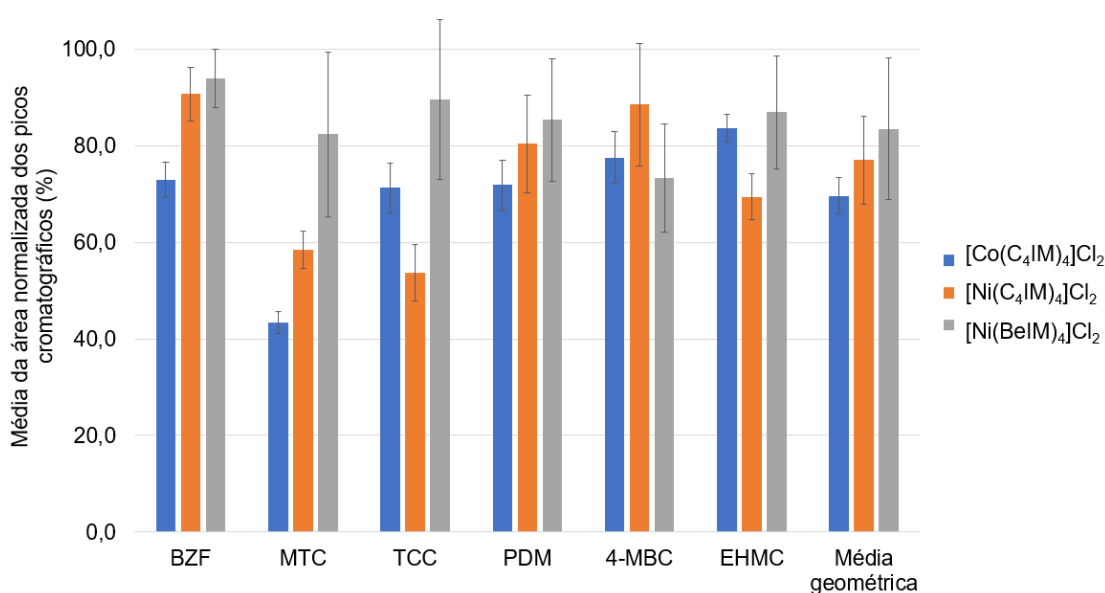
Fonte: Autoria própria, 2021.

5.3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.3.1 Seleção da fase extratora

O gráfico apresentado na Figura 17 mostra os resultados obtidos com os experimentos realizados para seleção do CP do MIL. Para a maioria dos analitos os melhores resultados foram obtidos com $[\text{Ni}(\text{BeIM})_4]\text{Cl}_2$, especialmente quando é avaliado MTC e BZF em comparação com o uso de $[\text{Co}(\text{C}_4\text{IM})_4]\text{Cl}_2$ como CP. Porém, para a maioria dos analitos resultados similares foram obtidos com esses dois MILs. Para confirmar que os resultados foram considerados estatisticamente iguais para os demais analitos foram realizados testes de análise de variância (ANOVA) de fator único com as áreas cromatográficas obtidas para cada um dos analitos e para os resultados de média geométrica da área cromatográfica de todos os analitos obtidos para cada experimento. Esses testes foram realizados com grau de confiança de 95%, sendo que as Tabelas completas estão presentes no apêndice (Tabelas A1, A2, A3 e A4), e um resumo dos resultados obtidos é apresentado na Tabela 10.

Figura 17. Gráfico obtido para estudo de eficiência de extração utilizando diferentes CPs para determinação de contaminantes emergentes em água. Condições: 1,15 mL de água ultrapura fortificada a $300 \mu\text{g L}^{-1}$ de cada um dos analitos, adição de 280 a $300 \mu\text{L}$ da solução do CP 10 g L^{-1} , agitação por 5 min, então adição de $30 \mu\text{L}$ de solução de LiNTf_2 92 g L^{-1} , agitação mantida por 30 min, coleta dos ímãs e diluição do MIL em $20 \mu\text{L}$ de ACN ($n=3$).



Fonte: Autoria própria, 2021.

Tabela 10. Resumo dos resultados obtidos pelos testes ANOVA de fator único com 95% de confiança para avaliação dos diferentes tipos de CP.

Analito	F _{calculado}	Valor-p	F _{crítico}
TCC	3,37	0,14	7,71
PDM	2,92	0,16	7,71
4-MBC	0,35	0,59	7,71
EHMC	0,24	0,65	7,71
Média geométrica	2,48	0,19	7,71

Fonte: Autoria própria, 2023.

Como pode-se ver os valores de F calculado foram todos menores que o valor crítico e todos os valores-p são maiores que 0,05, mostrando que não houve diferença estatística entre os resultados obtidos com $[\text{Co}(\text{C}_4\text{IM})_4]\text{Cl}_2$ e $[\text{Ni}(\text{BeIM})_4]\text{Cl}_2$ para TCC, PDM, 4-MBC, EHMC e para a média geométrica das áreas cromatográficas dos analitos obtida para cada um dos experimentos. Além disso, é importante destacar que como visto na Figura 17, que as barras de erros para os experimentos utilizando $[\text{Co}(\text{C}_4\text{IM})_4]\text{Cl}_2$ são as menores, inclusive quando comparada com o melhor resultado para MTC que foi $[\text{Ni}(\text{BeIM})_4]\text{Cl}_2$, e isso irá refletir na precisão do método e, portanto, também deve ser levado em consideração.

Outro ponto a ser considerado é referente as condições operacionais relacionadas ao uso desses MILs. Apesar de $[\text{Ni}(\text{BeIM})_4]\text{Cl}_2$ ter fornecido as melhores respostas para todos os analitos, a sua solubilidade em água era menor que a dos demais CPs utilizados, isso implica em uso de soluções de concentrações menores. Isso pode vir a ser um problema, pois a capacidade dos poços de extração é de até 2 mL, mas devido a presença dos ímãs nos pentes, é possível adicionar até cerca de 1,5 mL de amostra. Neste estudo foram utilizadas soluções 10 g L^{-1} , e para adicionar 3 mg do CP era necessário 300 μL dessa solução, sobrando somente 1,2 mL para a amostra. Ao utilizar soluções mais concentradas seria possível adicionar um volume menor de CP e, conseqüentemente, adicionar mais amostra.

Além disso, foi realizado um estudo para verificar quanto do MIL não era recuperado ao final do processo de extração, para avaliar se as diferenças de eficiência de extração poderiam estar relacionadas com esse parâmetro. Os resultados são apresentados na Tabela 3, apresentada na seção 4.2.2.1. Como pode-se ver não houve diferença de solubilidade do MIL, uma vez que para todos os CPs estudados cerca de 30% do metal permanecia na amostra após o procedimento de extração.

Por conta dos pontos levantados anteriormente, $[\text{Co}(\text{C}_4\text{IM})_4]\text{Cl}_2$ foi selecionado como condição compromisso, uma vez que as respostas dos analitos foram consideradas satisfatórias e sua solubilidade em água é alta, garantindo a produção de soluções de maior concentração.

5.3.2 Planejamento fatorial completo

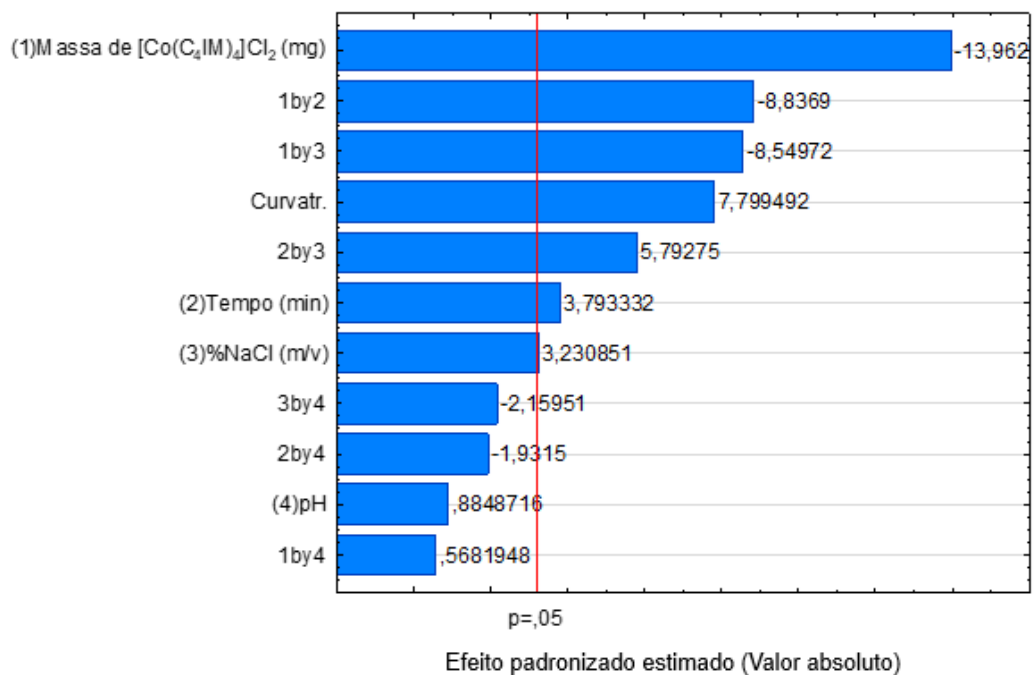
Uma vez que este projeto é uma proposta diferente de configuração optou-se por realizar um planejamento fatorial completo para triagem da significância dos principais parâmetros operacionais e seleção das melhores faixas experimentais para essas variáveis (MOUSAVI; TAMIJI; KHOSHAYAND, 2018). Os trabalhos de Trujillo-Rodríguez e Anderson (2019a, 2019b) foram utilizados como base para seleção destes fatores. Dessa maneira, com este planejamento foi avaliada a massa de $[\text{Co}(\text{C}_4\text{IM})_4]\text{Cl}_2$ (3 – 12 mg), tempo de extração (15 – 45 minutos), ajuste de pH (3 – 9) e concentração de NaCl (0 – 10% m/v) na amostra.

Não foi avaliado a proporção de CP e LiNTf_2 adicionada porque os autores avaliaram frações molares de 1:1, 1:2 e 1:3, mas o que destacaram é que os melhores resultados foram obtidos com frações de 1:2. Quando utilizaram frações de 1:1 não foi vista formação de gota do solvente e eles sugeriram que isso pode ser relacionado a baixa concentração de MIL hidrofóbico formado aumentando, em função disso a sua solubilidade em água. Além disso, quando comparada a eficiência de extração usando as frações 1:2 e 1:3, os autores indicaram que há um decréscimo de eficiência quando usada a razão 1:3 e sugerem que o excesso de LiNTf_2 pode ter saturado o MIL e diminuído a quantidade de analito extraído. Complementado, estudos de formação in situ de ILs, outros trocadores aniônicos podem ser usados, no caso de Trujillo-Rodríguez e Anderson (2019a) além do LiNTf_2 também testaram hexafluorofosfato de potássio (KPF_6), porém quando $[\text{PF}_6]$ - era utilizado como contraíon não era recuperado nenhum MIL hidrofóbico. Dessa maneira, como a estrutura dos CPs utilizados neste trabalho eram similares às do presente trabalho, foi selecionado LiNTf_2 como trocador aniônico e a fração molar de 1:2.

Utilizando um modelo que considera interações de até 2 fatores e com avaliação da significância da curvatura, foi obtido o gráfico de Pareto mostrado na Figura 18. Este gráfico foi construído utilizando a média geométrica das áreas cromatográficas dos analitos para cada experimento. O modelo obtido tem um R^2 de

0,973, mostrando boa correlação do modelo matemático proposto e os dados obtidos. Além disso, a tabela ANOVA é apresentada na Tabela A5 do Apêndice e mostra que o modelo não apresentou falta de ajuste. Neste gráfico se pode ver o valor do efeito das diferentes variáveis, sendo, as que ultrapassam a linha vermelha da figura, que representa um intervalo de confiança de 95%, são consideradas significativas. Além disso, o valor do efeito pode ser usado para delimitação de melhores faixas operacionais, uma vez que valores negativos sugerem que faixas mais próximas dos valores mínimos têm melhores resultados e com valores positivos o inverso acontece. A significância de um valor também pode ser vista na tabela ANOVA, parâmetros com valor-p menor que 0,05 mostram sua significância. Dessa forma, se pode citar três fatores que são considerados significativos sozinhos ou quando considerado a interação com outros fatores: a massa de $[\text{Co}(\text{C}_4\text{IM})_4]\text{Cl}_2$, tempo de extração e concentração de NaCl. Portanto, estes fatores foram selecionados para um novo planejamento.

Figura 18. Gráfico de Pareto obtido para o planejamento fatorial completo. Condições: 1,15 mL de água ultrapura fortificada a $300 \mu\text{g L}^{-1}$ de cada um dos analitos, adição de $300 \mu\text{L}$ da solução de $[\text{Co}(\text{C}_4\text{IM})_4]\text{Cl}_2$ de diferentes concentrações, agitação por 5 min, então adição de $120 \mu\text{L}$ de solução de LiNTf_2 de concentrações variadas, agitação mantida por tempo variado, coleta dos ímãs e diluição do MIL em $20 \mu\text{L}$ de ACN.



Fonte: Autoria própria, 2023.

Ao avaliar o valor de efeito para a massa de $[\text{Co}(\text{C}_4\text{IM})_4]\text{Cl}_2$, vemos que seu valor é negativo, portanto, melhores resultados foram obtidos quando massas próximas a 3 mg de CP eram utilizadas. Isso pode estar relacionado com a recuperação do MIL ao fim do processo, uma vez que quando maiores massas eram utilizadas percebia-se que maiores massas de MIL ficavam no fundo dos poços de extração e boa parte do MIL não era recuperada no ímã, conseqüentemente, haverá uma redução da quantidade de analito recuperada. Dessa forma, para o próximo planejamento optou-se por selecionar uma faixa mais restrita entre 3 e 5 mg.

As faixas de tempo de extração também podem ser reavaliadas, uma vez que o valor de seu efeito deu positivo, o que sugere que melhores resultados são obtidos quando tempos maiores são utilizados. Dessa maneira, uma faixa de 45 a 105 minutos foi proposta. Já para a concentração de sal optou-se por manter a mesma faixa, uma vez que este parâmetro não obteve grande significância sozinho.

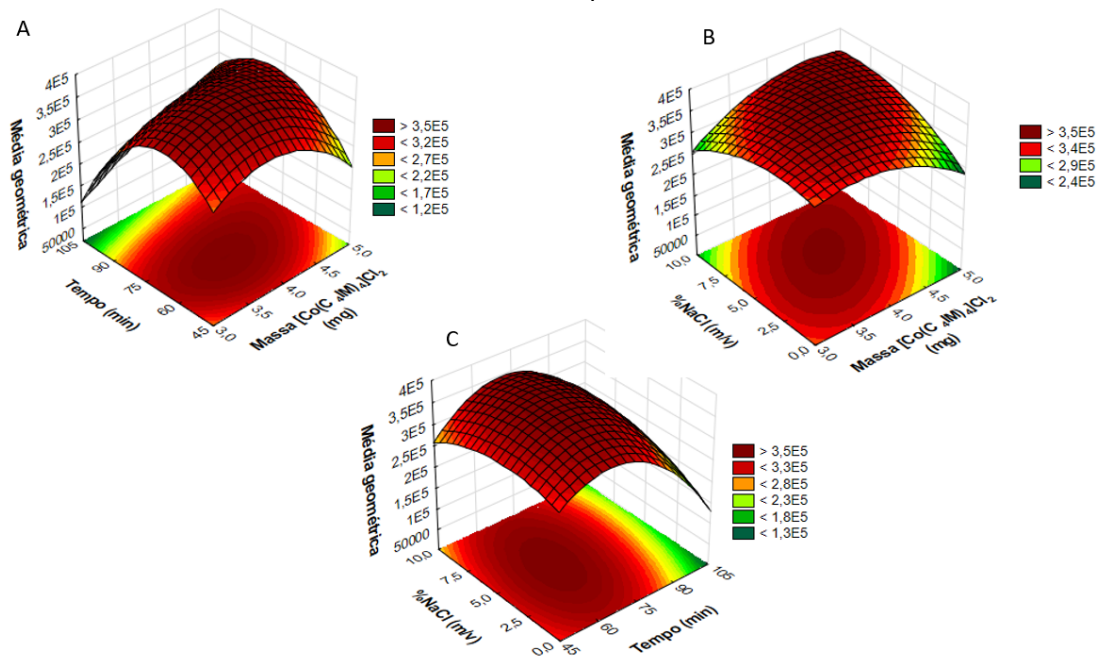
Por fim, o ajuste de pH da amostra não foi significativo e não foi incluído nos próximos experimentos. Com relação aos analitos, este resultado já era esperado, pois eles não apresentam valores de pKa significativos, o que justificaria a presença de analitos ionizáveis nessa faixa de pH. Por outro lado o pH pode afetar a estabilidade do MIL. Trujillo-Rodríguez e Anderson (2019b) avaliaram o efeito do pH da amostra, entre 2 e 8, na eficiência de extração utilizando $[\text{Ni}(\text{C}_4\text{IM})_4]\text{Cl}_2$. Segundo os autores, melhores eficiências de extração foram obtidas em faixas de pH menores, por conta da formação de complexos hidroxilados com Ni^{2+} em soluções mais básicas (TRUJILLO-RODRÍGUEZ; ANDERSON, 2019b). Porém, os autores mostram que a eficiência de extração em pH 8 fica em torno de 80% para a maioria dos analitos. No caso do presente trabalho, é possível perceber que a alteração de pH da amostra não foi significativa na faixa estudada, que representa o pH da amostra e por isso, este não foi um parâmetro avaliado posteriormente.

5.3.3 Planejamento Box Behnken

A Figura 19 apresenta as superfícies de respostas obtidas com os resultados utilizando um modelo quadrático de interação de até 2 variáveis e a tabela ANOVA é apresentada na tabela A6 do apêndice. Com este modelo foi obtido um valor de R^2 de 0,9924, sugerindo novamente que os dados experimentais são bem representados

por esse modelo matemático, possibilitando seu uso com confiança para determinação das condições ótimas de extração.

Figura 19. Superfícies de respostas obtidas com o planejamento Box-Behnken. Condições: 1,25 mL de água ultrapura fortificada a $300 \mu\text{g L}^{-1}$ de cada um dos analitos, adição de $125 \mu\text{L}$ da solução de $[\text{Co}(\text{C}_4\text{IM})_4]\text{Cl}_2$ de diferentes concentrações, agitação por 5 min, então adição de $50 \mu\text{L}$ de solução de LiNTf_2 de concentrações variadas, agitação mantida por tempo variado, coleta dos ímãs e diluição do MIL em $20 \mu\text{L}$ de ACN.



Fonte: Autoria própria, 2023.

Na Figura 19A pode-se perceber que com relação ao tempo de extração há um aumento do resultado obtido de 45 a aproximadamente 75 minutos e, após isso, é observado uma queda nos resultados obtidos, e essa mesma tendência é vista na Figura 19B. Neste caso, pode-se fazer um paralelo com os efeitos do tempo de extração na eficiência de extração quando se usa a SDME. Segundo Tang et al. (2018) o uso de tempos elevados de extração pode levar a um aumento da eficiência de extração, como o que é visto de 45 a 75 minutos, porém o uso de tempos muito longos pode resultar em um processo de re-extração e uma queda no sinal é vista, como o que é visto na Figura 19, quando os maiores tempos são utilizados. Dessa maneira, optou-se por trabalhar com 75 minutos de extração.

Com relação a massa de $[\text{Co}(\text{C}_4\text{IM})_4]\text{Cl}_2$, o que é visto na Figura 19A é que uma vasta faixa de massas com resultados ótimos, porém o que se observa na Figura 19B, sugere que um máximo é obtido com 4 mg de $[\text{Co}(\text{C}_4\text{IM})_4]\text{Cl}_2$, e essa massa foi

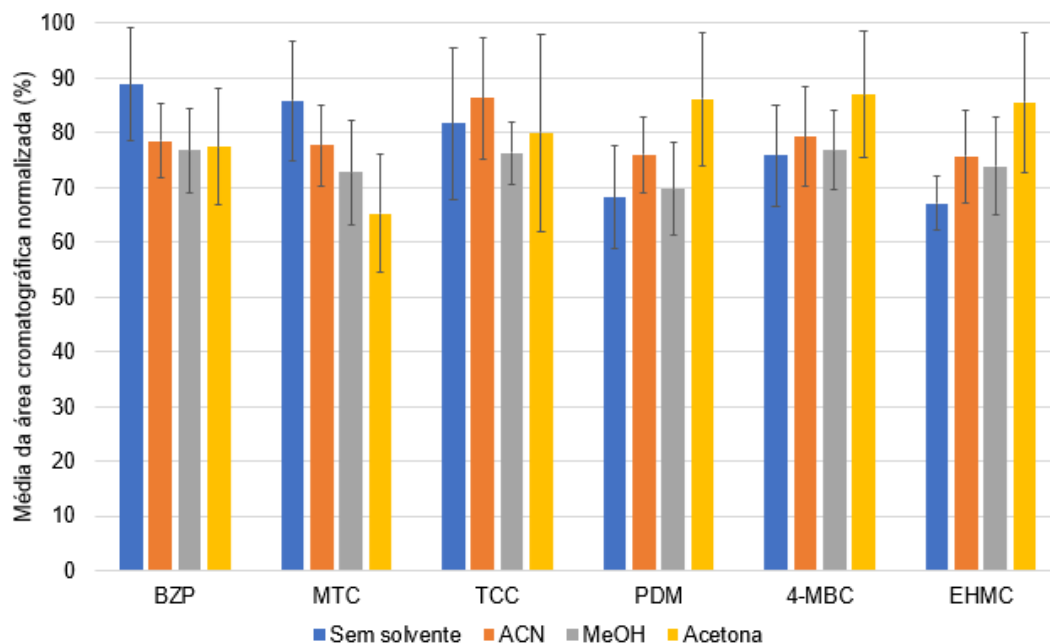
selecionada para os experimentos subsequentes. Já com relação a concentração de NaCl na amostra, o que se pode ver nas Figuras 19B e 19C, é que nos valores ótimos das outras variáveis selecionadas não foi percebido um efeito significativo sobre a resposta obtida e dessa forma optou-se por não o adicionar em solução. Este resultado pode ser justificado, pois os analitos selecionados para esse trabalho já apresentavam baixa polaridade com valores de log P maiores que 3,18 e, portanto, esperava-se que nenhum efeito pronunciado fosse percebido.

5.3.4 Avaliação da adição de solvente dispersor

A adição de solvente dispersor é uma etapa fundamental para a dispersão do solvente extrator na DLLME. Porém como já relatado anteriormente, diversas estratégias foram exploradas para evitar esta adição, como por exemplo o uso de procedimentos de temperatura controlada ou com uso de ultrassom e micro-ondas. Segundo Trujillo-Rodríguez e Anderson (2019), em geral nos trabalhos que usam a formação in situ de ILs o uso de solvente dispersor não é necessário, apesar de existirem algumas exceções. Estes autores reportam a primeira aplicação do uso de MILs formados in situ e devido as exceções que reportam ganhos com o uso de solvente dispersor, eles avaliaram essa adição e seus resultados mostram ganhos significativos com o uso de solventes como acetonitrila, acetona, tetrahidrofurano e metanol quando comparado a extração sem adição de solvente dispersor.

Dessa maneira, foi realizado um estudo para a avaliação do uso ou não de solventes dispersores nesta configuração e os resultados são apresentados na Figura 20. Como pode-se ver, não houve ganhos significativos de eficiência de extração quando utilizado ou não solvente dispersor. Inclusive os resultados obtidos não apresentam diferença estatística significativa, assim como se pode ver pelos resultados de testes ANOVA de fator único realizados para cada analito com 95% de confiança. Os resultados destes testes são apresentados de forma resumida na Tabela 11 e as Tabelas Anovas completas são apresentadas no Anexo (Tabelas A7, A8, A9, A10, A11 e A12). Dessa maneira, a fim de evitar o uso de volumes maiores de solventes orgânicos por amostra, optou-se por não o usar nos estudos subsequentes.

Figura 20. Avaliação do solvente dispersor para in situ Pa-DDE. Condições: 1,25 mL de água ultrapura fortificada a $300 \mu\text{g L}^{-1}$ de cada um dos analitos, adição de $100 \mu\text{L}$ de uma solução 40 g L^{-1} de $[\text{Co}(\text{C}_4\text{IM})_4]\text{Cl}_2$ e de $60 \mu\text{L}$ do solvente dispersor, agitação por 5 min, então adição de $40 \mu\text{L}$ de solução de LiNTf_2 92 g L^{-1} , agitação mantida por 75 min, coleta dos ímãs e diluição do MIL em $20 \mu\text{L}$ de ACN.



Fonte: Autoria própria, 2023.

Tabela 11. Resumo dos resultados obtidos com teste ANOVA de fator único com 95% de confiança para avaliação da adição de um solvente dispersor.

Analito	$F_{\text{calculado}}$	Valor-p	$F_{\text{crítico}}$
BZF	3,38	0,075	4,07
MTC	3,06	0,073	3,59
TCC	0,30	0,823	3,86
PDM	2,47	0,122	3,71
4-MBC	0,93	0,461	3,71
EHMC	2,53	0,117	3,71

Fonte: Autoria própria, 2023.

5.3.5 Parâmetros analíticos de mérito

As curvas analíticas foram construídas em amostras de água da torneira, isentas dos analitos, e fortificadas em 5 níveis de concentração. Os parâmetros analíticos de mérito obtidos são apresentados na Tabela 12. Os valores obtidos para LOD e LOQ foram de $7,5$ e $25 \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente, para todos os analitos. Os valores de R^2 foram todos maiores de $0,989$, mostrando boa correlação linear das curvas construídas. Esses valores de R^2 podem ser considerados adequados

conforme a RDC 166 de 2017 que estabelece o limite de 0,990 para r , portanto, de 0,98 para R^2 . Além disso, a Tabela 12 apresenta a faixa linear de trabalho para todos os analitos que foi de 25 a 500 $\mu\text{g L}^{-1}$ para todos os analitos e o fator de enriquecimento (EF) calculada para cada um dos analitos que variou de 7 a 22, isso significa que o procedimento de extração garante um ganho de sinal de 7 a 22 vezes quando comparada à injeção direta da amostra.

Tabela 12. Parâmetros analíticos de mérito obtidos com as curvas de calibração construídas em amostras de água da torneira. O fator de enriquecimento foi realizado em solução fortificada a 500 $\mu\text{g L}^{-1}$.

Analito	LOD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LOQ ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Faixa de trabalho ($\mu\text{g L}^{-1}$)	R^2	Fator de enriquecimento
BZF	7,5	25	25 - 500	0,997	8
MTC	7,5	25	25 - 500	0,989	7
TCC	7,5	25	25 - 500	0,991	22
PDM	7,5	25	25 - 500	0,996	13
4-MBC	7,5	25	25 - 500	0,997	14
EHMC	7,5	25	25 - 500	0,991	16

Fonte: Autoria própria, 2021.

Já com relação aos estudos de precisão e exatidão os resultados são apresentados na Tabela 13. Os valores de precisão intradia e interdia variaram de 6,4% a 20,6% e 11,6% a 22,9%, respectivamente. Estes valores foram considerados adequados. Segundo Rambla-Alegre, Esteve-Romero e Carda-Broch (2012), que apresentam um resumo com valores aceitáveis de acordo com diferentes níveis de concentração, neste trabalho é colocado como adequado valores de RSD menores que 15% e 21% para amostras de concentração de 100 ppb e 10 ppb, respectivamente. Apesar de que os valores encontrados não se encaixam a essa faixa, são bastante próximos e a maioria deles se encaixa e por isso foram considerados adequados.

Além disso, ensaios de recuperação relativa (%RR) foram realizados para três amostras em três níveis de concentração e os valores variaram de 73,3% a 112,5% para a amostra A, 74,7% a 129,1% para amostra B e 53,9% a 118,8% para amostra C. Com base no trabalho de Rambla-Alegre, Esteve-Romero e Carda-Broch (2012) a maioria dos valores obtidos são considerados adequados. As maiores exceções são para a amostra C, apesar de as amostras A e C serem coletadas do córrego da UFSC,

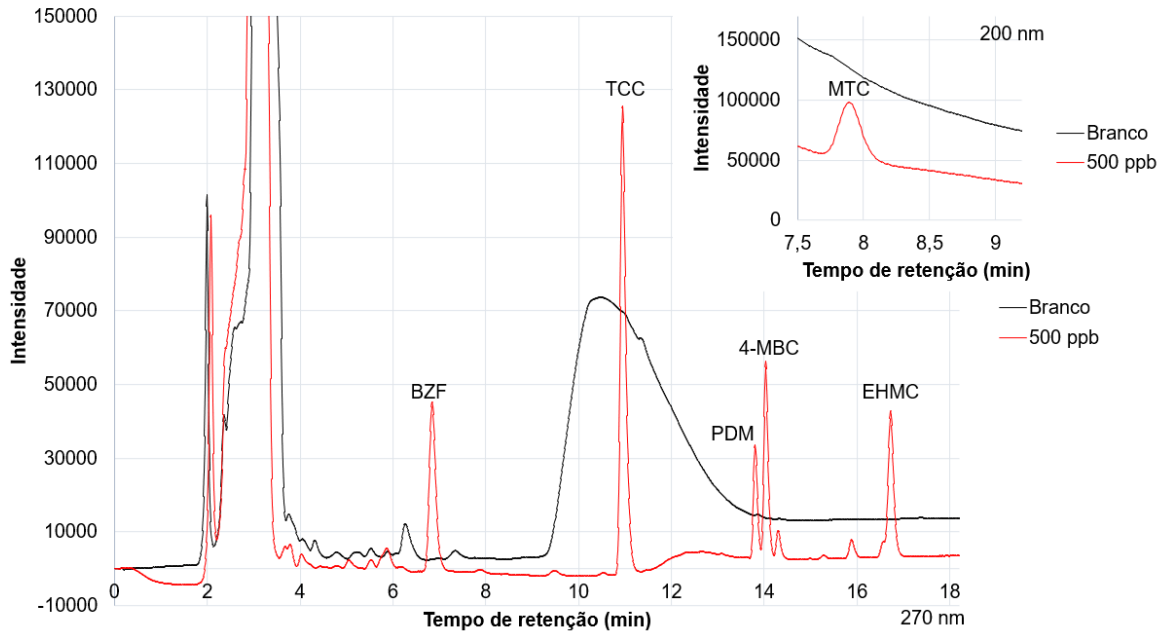
diferentes pontos foram selecionados, por conta disso, pode haver diferenças em possíveis interferentes nessas amostras. As Figura 21, 22 e 23 apresentam os cromatogramas das amostras com e sem fortificação, onde pode-se ver que nenhum dos analitos foi detectado nessas amostras.

Tabela 13. Resultados do estudo de precisão e recuperação.

Analito	Concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Precisão (RSD)		Recuperação relativa (RR%)		
		Intradia (n=3)	Interdia (n=9)	Amostra A	Amostra B	Amostra C
BZF	25	13,5		88,5 ($\pm 26,1$)	108,5 ($\pm 26,9$)	55,8 ($\pm 8,3$)
	150	18,5	11,6	77,7 ($\pm 6,5$)	93,7 ($\pm 14,7$)	53,9 ($\pm 4,8$)
	500	8,8		75,3 ($\pm 11,6$)	103,5 ($\pm 7,7$)	62,0 ($\pm 16,3$)
MTC	25	15,5		88,7 ($\pm 5,3$)	100,8 ($\pm 15,8$)	77,9 ($\pm 7,9$)
	150	11,7	14,1	75,3 ($\pm 2,1$)	95,6 ($\pm 3,5$)	63,0 ($\pm 9,4$)
	500	16,7		73,3 ($\pm 9,1$)	74,7 ($\pm 12,2$)	67,6 ($\pm 16,1$)
TCC	25	13,9		98,5 ($\pm 22,4$)	96,0 ($\pm 17,7$)	83,0 ($\pm 14,6$)
	150	6,4	16,3	100,0 ($\pm 3,5$)	109,2 ($\pm 17,7$)	85,2 ($\pm 7,8$)
	500	11,5		101,3 ($\pm 11,6$)	124,2 ($\pm 3,2$)	104,3 ($\pm 2,8$)
PDM	25	19,2		93,2 ($\pm 24,5$)	129,1 ($\pm 2,3$)	118,8 ($\pm 7,4$)
	150	9,6	16,7	102,7 ($\pm 5,4$)	101,7 ($\pm 14,2$)	78,8 ($\pm 6,2$)
	500	17,7		95,6 ($\pm 12,4$)	126,0 ($\pm 2,5$)	95,0 ($\pm 8,0$)
4-MBC	25	13,3		84,8 ($\pm 29,5$)	118,8 ($\pm 4,1$)	104,5 ($\pm 4,7$)
	150	7,9	19,5	88,0 ($\pm 5,1$)	100,3 ($\pm 11,1$)	69,6 ($\pm 8,1$)
	500	15,5		80,7 ($\pm 9,9$)	119,0 ($\pm 0,7$)	79,8 ($\pm 7,9$)
EHMC	25	20,6		102,0 ($\pm 22,9$)	110,8 ($\pm 7,2$)	105,2 ($\pm 7,3$)
	150	8,7	22,9	112,5 ($\pm 4,6$)	98,8 ($\pm 10,2$)	66,6 ($\pm 3,2$)
	500	13,8		111,7 ($\pm 8,5$)	119,8 ($\pm 2,7$)	84,4 ($\pm 3,0$)

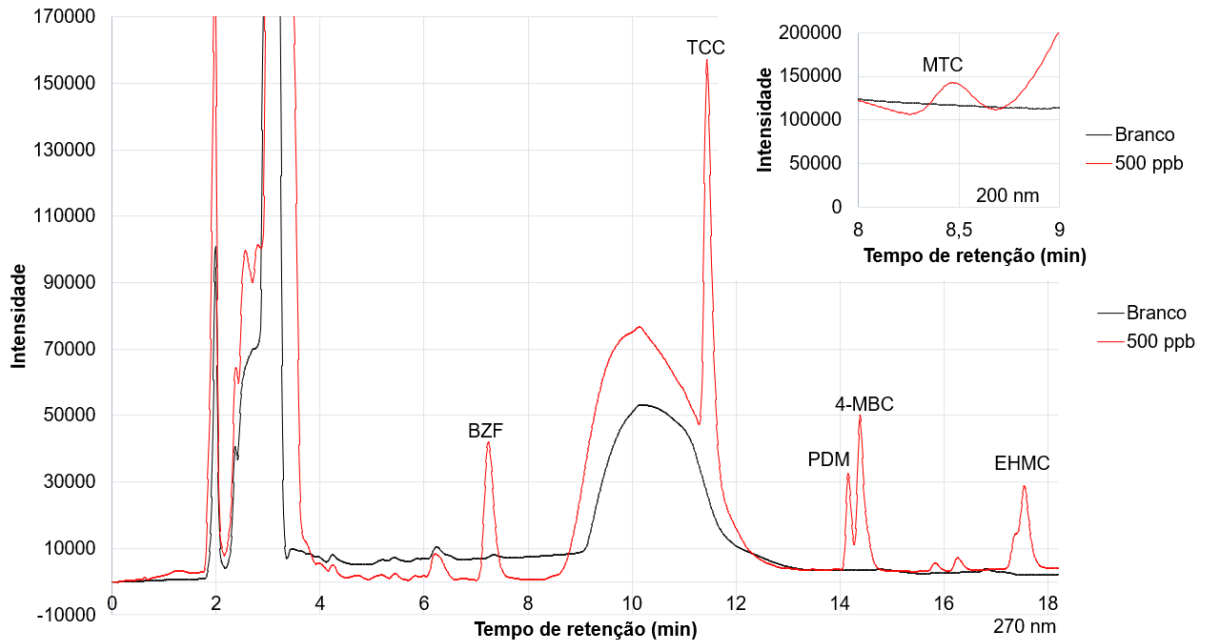
Fonte: Autoria própria, 2021.

Figura 21. Cromatogramas da amostra A fortificada a 500 µg L⁻¹ (vermelho) e sem fortificação (preto).



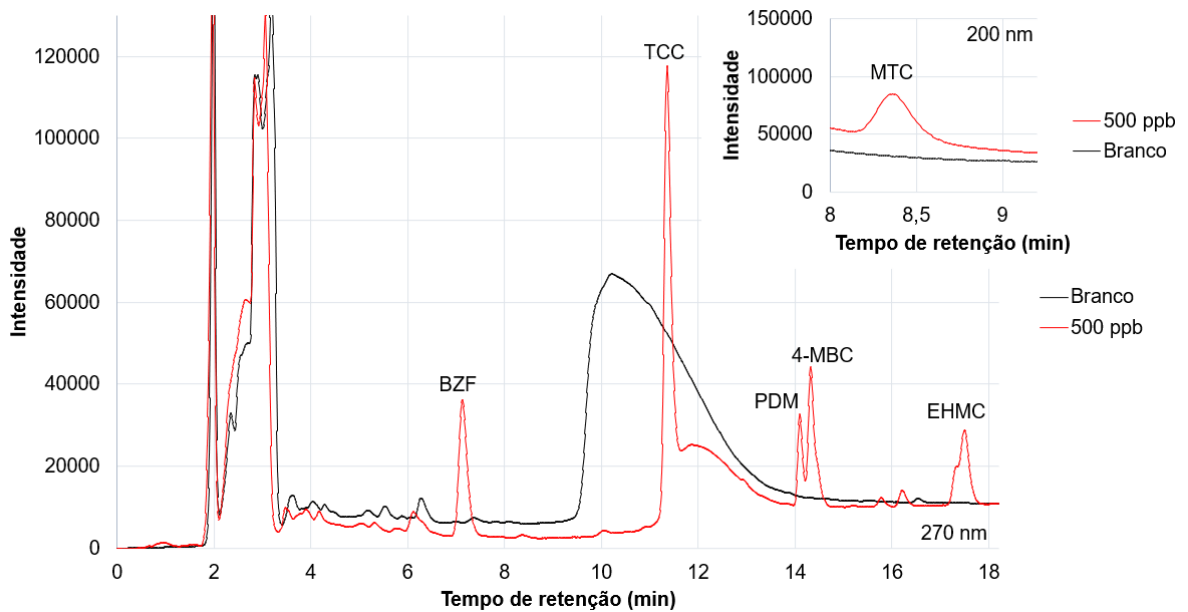
Fonte: Autoria própria (2023).

Figura 22. Cromatogramas da amostra B fortificada a 500 µg L⁻¹ (vermelho) e sem fortificação (preto).



Fonte: Autoria própria (2023).

Figura 23. Cromatogramas da amostra C fortificada a $500 \mu\text{g L}^{-1}$ (vermelho) e sem fortificação (preto).



Fonte: Autoria própria (2023).

Por fim, a robustez do método foi averiguada com o método de Youden e os resultados são apresentados como o gráfico de Lenth apresentado na Figura 24. Este gráfico apresenta os efeitos para os parâmetros selecionados e apresenta duas linhas que representam a margem de erro (ME) e a margem de erro simultânea (SME). Segundo Leonardi *et al.* (2015), a SME deve ser usada quando vários fatores são avaliados, como visto na Figura 24, nenhum dos parâmetros ultrapassou essa linha e, por isso, o método foi considerado robusto.

Figura 24. Gráfico de Lenth realizado para a avaliação da robustez do método. Sendo A: Volume da solução de $[\text{Co}(\text{C}_4\text{IM})_4]\text{Cl}_2$, B: Volume da solução de LiNTf_2 , C: Tempo de dispersão, D: Tempo de extração, E: Volume de amostra, F: Volume de ACN.



Fonte: Autoria própria, 2021.

5.3.6 Comparação com demais métodos da literatura

As principais características do método foram comparadas com outros métodos da literatura, a fim de destacar suas principais vantagens, conforme visto na Tabela 14. Uma das que mais chamam atenção é o tempo de preparo por amostra menor do que 1 minuto, principalmente quando comparado com os trabalhos de Ge e Lee (2012), Lopes et al. (2017) e Vidal et al. (2010) que necessitam de mais de 30 minutos por amostra. Isso é um reflexo da sucedida combinação do sistema de 96 poços de amostragem com as técnicas de preparo de amostra, como já destacado anteriormente, garantindo maior frequência analítica que é bastante importante, principalmente quando se pensa em laboratórios de rotina que tem uma alta carga de amostras.

Também pode-se citar o baixo consumo de amostra quando comparado às demais metodologias, que é um dos princípios da GAC e do GSP. A redução do consumo de amostra aliado ao uso de miligramas da fase extratora também é importante para a redução da geração de resíduos. Portanto, o método destaca-se como alternativa verde. Inclusive, foi utilizada a ferramenta AGREEprep para estimar o quão verde era o método desenvolvido frente aos demais apresentados na Tabela 14. Os resultados e como eles foram calculados é apresentado na Tabela A13 do

Apêndice, mas é importante destacar que o método apresentado neste trabalho apresentou o segundo maior valor, de 0,6.

Outra questão que merece destaque é referente ao uso de solventes extratores alternativos como os MILs, ILs e DES. No caso dos MILs e ILs uma das principais vantagens que merece destaque é a melhora na manipulação do solvente, uma vez que no presente método são utilizadas soluções aquosas dos precursores do MIL ao invés de manipulá-lo na sua forma hidrofóbica de alta viscosidade. Ainda com relação ao uso deste solvente, outra questão que merece destaque é que para a produção dos precursores dos MILs usados neste trabalho foi utilizado água como solvente da reação, enquanto outros trabalhos como o de Mafra et al. (2019), da Silva et al. (2019) e Chisvert et al. (2017) usam solventes orgânicos tradicionais na etapa de síntese da fase extratora. Dessa forma, este trabalho acaba por usar somente 20 µL de acetonitrila para a extração de uma amostra, sendo uma alternativa mais verde que outras que usam MILs. Portanto, apesar de os valores de LOD do presente método serem superiores a outros da literatura, o método desenvolvido destaca-se como alternativa verde.

Tabela 14. Tabela comparativa das principais características do presente método com outros presentes na literatura.

Preparo de amostra	Instrumentação	Analitos	Solvente extrator	Volume de amostra (mL)	LOD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Tempo de preparo por amostra (min)	Referência
In situ Pa-DDE/MIL	HPLC-DAD	BZF, MTC, TCC, PDM, 4-MBC e EHMC	$[\text{Co}(\text{C}_4\text{IM})_4][\text{NTf}_2]_2$	1,25	7,5 ^{a,b,c,d,e,f}	0,78	Presente trabalho
Pa-SDME	HPLC-DAD	BZF e TCC	$[\text{P}_{6,6,6,14}]_2[\text{MnCl}_4]$	1,5	1,5 ^a e 3,0 ^c	0,94	(MAFRA et al., 2019)
TC-IL-DLPME	HPLC-UV	BZF	$[\text{HMIM}][\text{FAP}]$	10	0,3 ^a	20	(ZHANG; LEE, 2013)
AA-LLME-SFDES	HPLC-UV	BZF	DES C ₁₀ :C ₁₂ (2:1)	5	0,45 ^a	>3	(ZHANG et al., 2020a)
SBDLME	TD-GC-MS	EHMC e 4-MBC	$[\text{P}_{6,6,6,14}][\text{Ni}(\text{hfacac})_3]$	25	0,152 ^e e 0,153 ^f	10	(CHISVERT et al., 2017)
HF-DLLME	HPLC-DAD	4-MBC e TCC	Octanol e hexano	20	3,0 ^{c,e}	~60	(LOPES et al., 2017)
IL-SDME	LC-UV	4-MBC e EHMC	$[\text{C}_6\text{MIM}][\text{PF}_6]$	20	0,06 ^e e 0,19 ^f	37	(VIDAL et al., 2010)
IL-HF-LPME	HPLC-UV	BZF e 4-MBC	$[\text{HMIM}][\text{FAP}]$	10	0,2 ^a e 0,3 ^e	50	(GE; LEE, 2012)
DLLME/MIL	HPLC-DAD	TCC e MTC	$[\text{P}_{6,6,6,14}]_2[\text{MnCl}_4]$	3	1,5 ^{b,c}	5	(DA SILVA et al., 2019a)
VA-DLLME	GC-MS/MS	PDM	CHCl_3	7,5	NE	5	(ABDALLAH, 2020)

TC-IL-DLPME: microextração líquido-líquido dispersiva com IL e temperatura controlada; [HMIM][FAP]: 1-hexil-3-metilimidazólio tris(pentafluoroetil)trifluorofosfato; AA-LLME-SFDES: microextração líquido-líquido assistida por ar baseada na solidificação da gota de DES; TD-GC-MS: cromatografia a gás com dessorção térmica acoplada a detecção por espectrometria de massas; HF-DLLME: microextração líquido-líquido dispersiva suportada por membrana oca; [C₆MIM][PF₆]: 1-hexil-3-metilimidazólio hexafluorofosfato; IL-HF-LPME: Microextração em fase líquida suportada em fibra oca baseada em IL; VA-DLLME: microextração líquido-líquido dispersiva assistida por vortex; NE: não encontrado. ^a BZF. ^b MTC. ^c TCC. ^d PDM. ^e 4-MBC. ^f EHMC

5.4 CONSIDERAÇÕES PARCIAIS

Este trabalho demonstrou a sucedida combinação da formação *in situ* de MILs para a extração e o uso do sistema de 96 poços de amostragem. Como apresentado anteriormente os ganhos de frequência analítica com essa combinação são bastante significativos, sendo necessário menos de 1 minuto por amostra (0,78 min) quando utilizada a capacidade total do sistema de 96 poços de amostragem.

A metodologia foi otimizada e validada com sucesso. Curvas de calibração construídas em matriz de água da torneira obtiveram bons parâmetros analíticos com R^2 superiores a 0,989 e LOQ de $25 \mu\text{g L}^{-1}$ para todos os analitos. A precisão e exatidão foram avaliadas e consideradas adequadas conforme guias de validação internacionais.

O uso de MILs formados *in situ* é uma alternativa bastante atraente para os problemas encontrados com a manipulação de MILs devido sua alta viscosidade, uma vez que seus precursores são adicionados em soluções aquosas. Também é importante destacar que o presente trabalho é uma alternativa de alta frequência analítica com baixo consumo de amostra e solventes, sendo, portanto, uma alternativa mais verde e próxima dos princípios da química analítica verde e do preparo de amostras verde, pela redução da geração de resíduos. Porém, ainda foram observadas limitações relacionadas a injeção de MILs no HPLC-DAD, como aumento da pressão residual após a análise, sendo necessário instituir um procedimento de limpeza entre injeções, e o sinal de fundo provocado pela absorção de radiação pelo solvente. Esse aumento da pressão residual, está relacionada ao acúmulo de MIL na fase estacionária após algumas injeções de MILs, que podem estar relacionadas a interações entre os cátions dos MILs e a fase estacionária (TRUJILLO-RODRÍGUEZ; ANDERSON, 2019a).

6 DESENVOLVIMENTO DE UMA MÉTODO DE ALTA FREQUÊNCIA ANALÍTICA BASEADA NA EXTRAÇÃO EM GOTA DISPERSIVA E O USO DE MILS FORMADOS *IN SITU* COMO UMA ALTERNATIVA PARA A DETERMINAÇÃO DE HIDROCARBONETOS POLICÍCLICOS AROMÁTICOS EM BEBIDAS DESTILADAS USANDO HPLC-DAD

6.1 INTRODUÇÃO

Os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) são uma classe de compostos formados por anéis aromáticos fundidos. A estrutura química dos HPAs utilizados no presente trabalho assim como seus respectivos logs K_{ow} são apresentados na Tabela 15. Esses compostos são pouco voláteis e apresentam uma baixa solubilidade em água (PENG; LIM, 2022; ZHU *et al.*, 2022), como pode-se ver por seus valores de log K_{ow} apresentados na Tabela 15.

Tabela 15. Estruturas e propriedades físico-químicas dos HPAs.

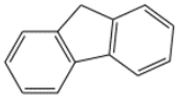
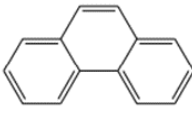
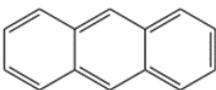
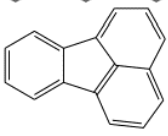
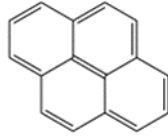
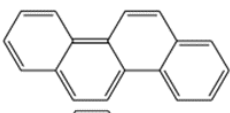
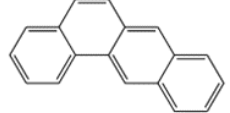
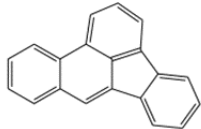
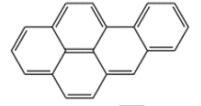
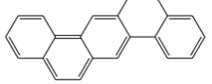
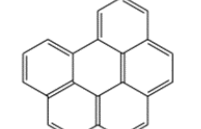

Analito	Estrutura química[1]	Log Kow*
Fluoreno (FLU)		4,18
Fenantreno (PHEN)		4,46
Antraceno (ANT)		4,45
Fluoranteno (FLT)		5,16
Pireno (PYR)		4,88
Criseno (CRY)		5,73
Benzo(a)antraceno (BaA)		5,76

Tabela 15. Estruturas e propriedades físico-químicas dos HPAs. (Continuação)

Analito	Estrutura química[1]	Log Kow*
Benzo(b)fluoranteno (BbF)		5,78
Benzo(a)pireno (BaP)		6,13
Dibenz[a,h]antraceno (DBahA)		6,50
Benzo[ghi]perileno (BghiP)		6,63
Indeno(1,2,3-cd)pireno (IP)		6,70

*Obtido em Pubchem

Eles são produzidos pela combustão incompleta de matéria orgânica, em que são formadas moléculas orgânicas menores que são unidas a fim de obter maior estabilidade gerando os HPAs (CIEMNIAK et al., 2019; LIMA et al., 2022; PENG; LIM, 2022). Por conta disso, eles podem ser encontrados em diversas amostras sendo elas ambientais, alimentícias e biológicas. Por isso, os seres humanos podem ser expostos e contaminados por inalação, contato dérmico, mas principalmente pela ingestão de alimentos e bebidas contaminados (SINGH; AGARWAL, 2018; ZHU et al., 2022). A questão é que os HPAs são reconhecidos por serem carcinogênicos e mutagênicos, apresentando um risco à saúde humana e, portanto, devem ser cuidadosamente monitorados em amostras de alimentos. Diversos países os monitoram em amostras alimentícias, porém não há uma concordância com relação aos limites (ZHU et al., 2022).

A presença de HPAs em alimentos e bebidas pode estar relacionada com a contaminação do solo ou água utilizada para produção, deposição de partículas da atmosfera na planta e etapas de processamento do alimento, como por exemplo, torrefação, cozimento, defumação, entre outros (PENG; LIM, 2022; SINGH; AGARWAL, 2018). A cachaça e o rum são produzidos pela fermentação do suco ou do melaço da cana-de-açúcar. Nesses casos, a contaminação pode ser proveniente da planta, ou devido a prática de queima dos campos para colheita da cana-de-açúcar,

também pode ocorrer pelo contato com graxas, óleos ou fumaça de combustível do veículo utilizado para transporte, além de outras etapas do processamento da bebida, como por exemplo, o uso de barris para envelhecimento tratados com aquecimento (DA SILVA et al., 2019b; LIMA et al., 2022; PENG; LIM, 2022).

Esses compostos são encontrados em concentrações baixas, por exemplo, são reportadas concentrações que variam de 0,14 a 5,77 $\mu\text{g L}^{-1}$ para FLT e DBahA (MENEZES et al., 2015) e 0,24 a 6,93 $\mu\text{g L}^{-1}$ para FLT e BaP (BARBOSA et al., 2022). Como não há legislação brasileira para esses compostos nessas amostras, alguns autores utilizam como comparação o limite estabelecido pela União Europeia para o BaP em amostras de alimentos de até 2 $\mu\text{g L}^{-1}$. Além disso, estima-se que a quantidade total de HPAs que pode ser ingerida por dia é de 2,5 μg (MENEZES et al., 2015; PENG; LIM, 2022). Dessa maneira, além de serem encontrados nessas amostras em baixas concentrações, é também importante o monitoramento destes compostos mesmo nessas concentrações devido a seus efeitos adversos à saúde. Ademais, amostras de cachaça e rum podem variar sua composição por conta de diferentes tratamentos utilizados para agregar valor ao produto, por consequência, podendo haver diferentes interferentes que podem atrapalhar a quantificação desses analitos. Por conta disso, uma etapa de preparo de amostras torna-se imprescindível.

Diferentes técnicas de extração já foram utilizadas para determinação desses analitos em amostras de bebidas alcoólicas, dentre elas técnicas clássicas, como a SPE (BARBOSA et al., 2022; MACHADO et al., 2014), e técnicas modernas como a QuEChERS (DA SILVA et al., 2019b), a SPME (MENEZES et al., 2015) e a microextração por emulsificação assistida por ultrassom (USAEME) (CACHO et al., 2016). Embora a SPE apresente baixos limites de detecção, a técnica utiliza grande quantidade de amostra, além de que os cartuchos de SPE são utilizados uma única vez, gerando uma grande quantidade de resíduos. Já as técnicas modernas vêm sendo propostas como alternativas para reduzir a quantidade de materiais utilizados e melhorar parâmetros analíticos. Porém, esses métodos citados anteriormente utilizam solventes orgânicos tradicionais, trazendo um risco ao analista. Dessa forma, torna-se importante o desenvolvimento de métodos que tragam alternativas para contornar tais problemas.

Uma das tendências em técnicas de preparo de amostras é o uso de solventes alternativos, como os MILs, que são solventes com propriedades físico-químicas únicas, como sua pressão de vapor negligenciável que os tornam mais seguros ao

analista, além de possuir uma seletividade variável de acordo com os grupos funcionais adicionados a sua estrutura (ALVES et al., 2022). O presente trabalho busca ampliar as aplicações dos MILs formados *in situ*, que são uma classe desses solventes que é formado durante a extração. Até o momento, a maioria das aplicações desses solventes é feita para análise de amostras de água, com exceção do trabalho de Yao e Du (2020). Isso pode estar relacionado com a formação do MIL que é feita durante a extração, portanto, alguns componentes da matriz podem influenciar nessa reação e na solubilidade do MIL formado na amostra. Dessa maneira, o presente trabalho propõe a expansão da aplicabilidade da técnica desenvolvida na seção 5 para amostras de maior complexidade, portanto utilizando MILs formados *in situ* para a determinação de HPAs em amostras de cachaça e rum.

6.2 MATERIAIS E MÉTODOS

6.2.1 Materiais e Reagentes

Uma solução contendo uma mistura dos HPAs apresentados na Tabela 15 (CRM 47930) foi obtida da Sigma Aldrich. Foi produzida uma solução de trabalho 20 mg L⁻¹ dessa mistura, ao diluir uma quantidade apropriada com ACN. Também foram obtidos da Sigma Aldrich bis(trifluorometilsulfonil)imida de lítio (Li(NTf₂)), sais de cloreto de níquel e cobalto, n-butimidazol e dietil éter com alto grau de pureza (>95%). Água ultrapura (18.2 MΩ cm) utilizada para preparação da fase móvel e soluções utilizadas neste trabalho foi obtida de um sistema de purificação de água (Mega Purity, Billerica, EUA). ACN grau HPLC foi obtida de Biograde. Foram preparadas soluções de etanol (PA 99,5%, obtido da Neon) e água ultrapura 40% (v/v) para preparar as soluções de CPs e para construção das curvas de calibração. As soluções de CPs utilizadas para otimização e validação foram preparadas em 30 e 40 g L⁻¹ utilizando as soluções hidroalcoólicas. Por sua vez, a solução de LiNTf₂ foi preparada em água ultrapura em concentração de 92 g L⁻¹. Por fim, para otimização e aplicação do método foram obtidas quatro amostras de cachaça de mercados locais (amostras A, B, C e D) e uma amostra de rum (amostra E). As amostra de cachaça são todas de marcas diferentes, é interessante destacar que a amostra B é uma cachaça de menor custo, armazenada em embalagem de plástico, já as amostras C e D passam por um processo de envelhecimento. Segundo o fabricante, a amostra C é processada em

barris de Freijó por cerca de 12 meses e a amostra D em barris de Carvalho europeu e jequitibá rosa por cerca de 2 anos.

6.2.2 Instrumentação analítica

Foi utilizado um cromatógrafo a líquido da Shimadzu modelo LC 20-AT equipado com um detector por arranjo de diodos SPD-20 e um sistema de injeção manual de 20 μL Rheodyne 7725i. Foi utilizada uma coluna Agilent Zorbax C18 (5,0 μm , 4,6 mm, 250 mm) e, como fase móvel, ACN (A) e água ultrapura (B). Foi utilizada um modo de eluição por gradiente iniciando com 60% de A e 40% de B, A foi linearmente aumentado para 75% até 3 minutos, então A foi aumentado novamente para 100% de 3 a 10 minutos, sendo que essa condição foi mantida até 15,5 minutos de corrida. Por fim, a condição inicial foi rapidamente reestabelecida e mantida até 21 minutos de corrida cromatográfica. O fluxo foi mantido a 1 mL min^{-1} , porém, após algumas injeções foi notado um aumento de pressão e para garantir uma limpeza do sistema foi mantida a condição inicial da corrida a 1,5 mL min^{-1} por alguns minutos até que a pressão do sistema retornasse a condição normal. Para detecção e quantificação dos analitos foram selecionados os seguintes comprimentos de onda: 210 nm para FLT e IP, 230nm para ANT and PYR, 254 nm para FLU, PHEN, CRY + BaA, BbF and BghiP, 265 nm para BaP e 290 nm para DBahA.

Também foi utilizado um sistema de *96-well plate* semi-automatizado da Brüder Mannesmann Werkzeuge (Remscheid, NRW, Alemanha) e ímãs de neodímio (N35, 3 mm \times 8,5 mm, 0,595 T) obtidos da Ímã Shop (São Paulo, Brasil). Como já descrito anteriormente no item 5.2.2, estes ímãs foram adaptados nos pinos dos pentes desse sistema conforme descrito por Mafra *et al.* (2019).

6.2.3 Otimização do procedimento de extração

As otimizações do procedimento de extração foram realizadas com amostras de cachaça fortificadas com 150 $\mu\text{g L}^{-1}$ dos analitos. Foram utilizadas estratégias de otimização univariadas e multivariadas, sendo que os resultados foram avaliados com auxílio dos *softwares* Statsoft Statistica e Excel.

Primeiramente, foi avaliado o tipo de CP utilizado para formação do MIL hidrofóbico, para isso foram utilizadas soluções hidroalcolicas (40%, v/v) para produção de soluções 30 g L⁻¹ dos CPs [Co(C₄IM)₄]Cl₂ e [Ni(C₄IM)₄]Cl₂. Para esses estudos foram utilizados 1,2 mL de amostra, 230 µL da solução de CP e 70 µL da solução de LiNTf₂ 92 g L⁻¹ e 45 minutos de extração. Os MILs coletados foram diluídos em 25 µL de ACN. Os experimentos foram realizados em triplicata para cada um dos CPs e os resultados foram avaliados utilizando a média das áreas normalizadas dos picos cromatográficos dos analitos para produção de gráficos de barras no Excel.

Em seguida, foi avaliada a quantidade de CP, de 4 a 12 mg, e tempo de extração, de 30 a 90 minutos, por meio de um planejamento Doehlert, sendo os experimentos apresentados na Tabela 16. Esses estudos foram realizados com 1,2 mL de amostra e diferentes volumes de solução hidroalcolica (40%, v/v) 40 g L⁻¹ do CP selecionado anteriormente. Os resultados foram avaliados utilizando as médias geométricas das áreas dos picos cromatográficos dos analitos em cada um dos experimentos as quais foram utilizadas para gerar as superfícies de resposta com auxílio do Statsoft Statistica.

Tabela 16. Planejamento Doehlert utilizado para otimização da massa de MIL e tempo de extração para amostras de cachaça

Experimento	Massa de MIL (mg)	Tempo de extração (min)
1	4 (-0,866)	30 (-0,5)
2	4 (-0,866)	70 (+0,5)
3	8 (0)	10 (-1)
4	8 (0)	50 (0)
5	8 (0)	50 (0)
6	8 (0)	50 (0)
7	8 (0)	90 (+1)
8	12 (+0,866)	30 (-0,5)
9	12 (+0,866)	70 (+0,5)

Fonte: Autoria própria, 2023.

Parâmetros como pH e adição de sal não foram avaliados devido as propriedades físico-químicas dos analitos. A avaliação de ajuste de pH pode estar relacionada com a estrutura química dos analitos ou do material extrator. Em geral, melhores eficiências de extração são obtidas quando os analitos encontram-se na sua forma neutra (MERIB et al., 2018), no caso dos HPAs este parâmetro não é muito significativo, pois eles não apresentam grupos ionizáveis em sua estrutura (KONG et al., 2019). Por outro lado, a adição de sal às amostras pode promover o efeito *salting out*, ao reduzir a solubilidade dos analitos na amostra aumentando a eficiência de

extração (CARASEK; MERIB, 2015). Porém, a adição de sal a amostra pode promover um aumento de viscosidade da mesma dificultando processos de dispersão (TANG et al., 2018). Ademais, em outro trabalho usando MILs formados *in situ* foi reportado que com a adição de sal a amostras as gotas de solvente formadas eram maiores, o que poderia afetar a dispersão do solvente e reduzir a eficiência de extração (TRUJILLO-RODRÍGUEZ; ANDERSON, 2019a). Além disso, como visto no trabalho apresentado na sessão 5, em que foram utilizados analitos com log P maiores que 3,18, o efeito da adição do sal não foi significativo, o que provavelmente se repetiria para analitos como os HPAs que apresentam log P maiores que 4,18.

Outro parâmetro que não foi avaliado neste trabalho foi a adição de um solvente dispersor. O uso de solvente dispersor foi reportado em outros trabalhos que usam a formação *in situ* de MILs a fim de aumentar a dispersão e, por consequência, a área de contato entre MIL e analito (BOWERS et al., 2019; TRUJILLO-RODRÍGUEZ; ANDERSON, 2019a, 2019b). Porém, como visto na sessão 5, este parâmetro foi avaliado anteriormente, mas nenhum aumento de eficiência de extração foi visto com a adição de solvente. Além disso, o etanol presente na amostra pode atuar como solvente dispersor, como já foi utilizado anteriormente (WILL et al., 2018).

6.2.4 Procedimento de extração otimizado

Primeiramente adicionou-se 1,2 mL de amostra em placas de multipoços com capacidade de 2 mL, seguida da adição de 250 µL de uma solução hidroalcoólica (40%, v/v) de $[\text{Co}(\text{C}_4\text{IM})_4]\text{Cl}_2$ 40 g L⁻¹. Foi mantida a agitação por alguns minutos para garantir a homogeneização dessas soluções e, então, foi adicionado em cada um dos poços 100 µL de uma solução aquosa de LiNTf₂ 92 g L⁻¹. Em seguida, os pentes adaptados com os ímãs foram colocados em contato com a amostra e o sistema foi mantido sob agitação por 90 minutos e então o MIL coletado no ímã no decorrer da extração é diluído em 25 µL de ACN.

6.2.5 Determinação dos parâmetros analíticos de mérito

Foram construídas curvas de calibração utilizando soluções hidroalcoólicas, produzidas com etanol e água ultrapura 40% (v/v), fortificadas em 5 níveis de

concentração utilizando o método de preparo de amostra otimizado. Com isso, foram obtidos os limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ), coeficiente de determinação (R^2) e a faixa linear de trabalho. O LOQ foi considerado o primeiro ponto da curva com desvio padrão relativo menor que 20% e o LOD foi considerado como a razão entre LOQ e 3,33 (MAFRA *et al.*, 2019; PIERRI *et al.*, 2022).

Em seguida, foram realizados estudos de precisão intradia e interdia utilizando soluções hidroalcoólicas produzidas com etanol e água ultrapura 40% (v/v). Para precisão intradia essas soluções foram fortificadas em 3 níveis de concentração (LOQ, 75 e 150 $\mu\text{g L}^{-1}$) e submetidas ao procedimento de extração otimizado em triplicata ($n=3$). Já a para precisão interdia essa solução foi fortificada em 1 nível de concentração (75 $\mu\text{g L}^{-1}$) e submetida ao procedimento de extração em triplicata em 3 dias diferentes ($n=9$). Os resultados desses experimentos foram expressos como o desvio padrão relativo (RSD) dessas medidas.

A exatidão foi avaliada por meio de ensaios de recuperação relativa (%RR) realizados em 5 amostras, sendo elas quatro amostras de cachaça obtidas de mercados locais (amostras A, B, C e D) e uma amostra de rum (amostra E). Antes de realizar os estudos de exatidão foi aplicado o procedimento de preparo nas amostras não fortificadas e como nenhum dos analitos foi detectado nelas foi possível utilizá-las para esses estudos. Para os ensaios de %RR as amostras foram fortificadas em 3 níveis de concentração (25, 75 e 150 $\mu\text{g L}^{-1}$) e submetidas ao procedimento de extração em triplicata. Os resultados foram obtidos usando as curvas de calibração construídas e as áreas cromatográficas obtidas nos experimentos. Por fim, foi calculado o fator de enriquecimento (EF) da técnica ao realizar a injeção direta de uma amostra fortificada em 150 $\mu\text{g L}^{-1}$ (C_0) e o extrato obtido dessa amostra após o procedimento proposto (C_{mil}), sendo que EF foi calculado como a razão entre C_{mil} e C_0 (MAFRA *et al.*, 2019).

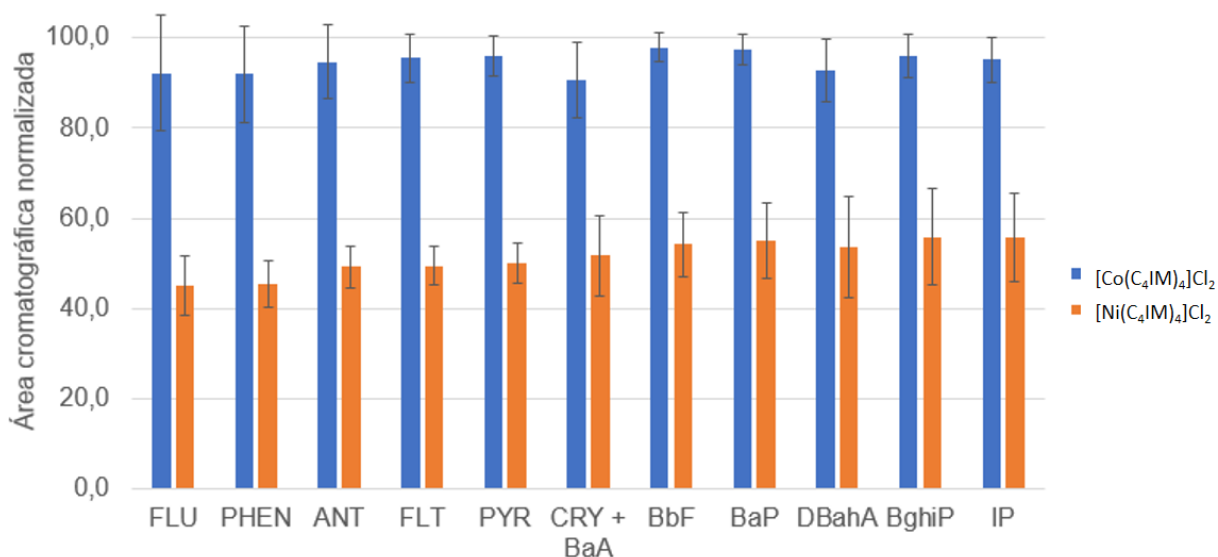
6.3 RESULTADOS E DISCUSSÕES PARCIAIS

6.3.1 Seleção da fase extratora

A seleção da fase extratora é uma das etapas cruciais em técnicas de preparo de amostras, para este trabalho foram utilizados os CPs $[\text{Co}(\text{C}_4\text{IM})_4]\text{Cl}_2$ e $[\text{Ni}(\text{C}_4\text{IM})_4]\text{Cl}_2$. Os resultados são apresentados como um gráfico de barras

apresentado na Figura 25. Como pode ser visto os melhores resultados foram obtidos utilizando $[\text{Co}(\text{C}_4\text{IM})_4]\text{Cl}_2$ como CP isso pode estar relacionado com a eficiência da reação de formação do MIL ou com a sua solubilidade na amostra. Bowers e colaboradores realizaram um estudo para verificar a concentração de metal restante na amostra após o procedimento de extração. Neste estudo eles haviam encontrado que no caso do MIL formado com $[\text{Ni}(\text{C}_4\text{IM})_4]\text{Cl}_2$ cerca de 58,8% da massa inicial de MIL permanecia na amostra após a extração, já para $[\text{Co}(\text{C}_4\text{IM})_4]\text{Cl}_2$ foi 38,8% (BOWERS et al., 2019).

Figura 25. Seleção do cátion precursor do MIL. Condições: 1,2 mL de amostra de cachaça fortificadas em $150 \mu\text{g L}^{-1}$, 230 μL de uma solução hidroalcoólica 30 g L^{-1} do CP e 70 μL de uma solução aquosa de LiNTf_2 92 g L^{-1} e 45 minutos de extração.



Fonte: Autoria própria, 2023.

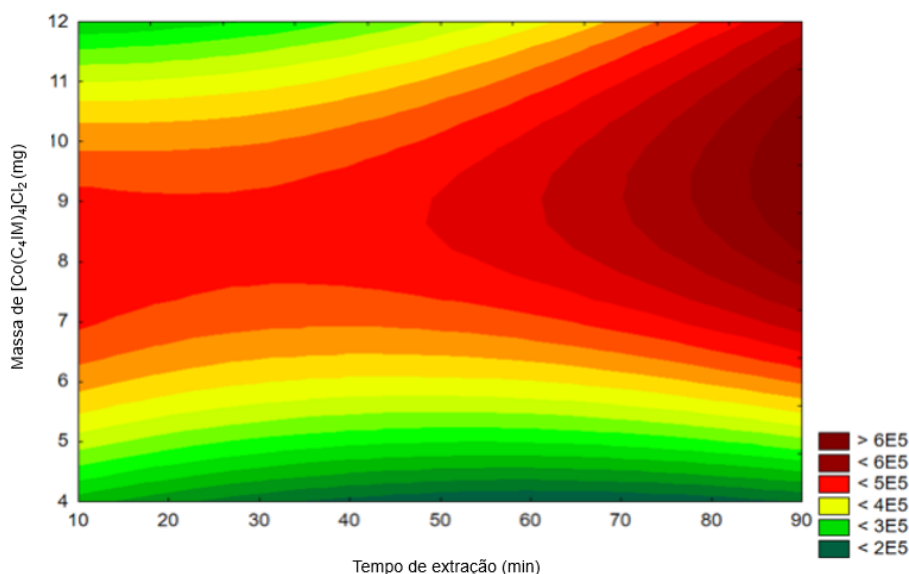
Com auxílio do laboratório LEMA do Departamento de Química da UFSC foi possível realizar as medidas da quantidade de metal restante na amostra de cachaça após o procedimento de extração. Para isso, 30 μL da amostra de cachaça foi diluída em 10 mL de uma solução aquosa acidificada. Os resultados são apresentados como a porcentagem que representa a relação entre a quantidade de metal remanescente após o procedimento de preparo de amostra e a quantidade de metal inicialmente adicionada, sendo apresentados também as condições experimentais na Tabela 4, apresentada anteriormente na seção 4.2.2.1. Como pode ser visto, na amostra em que foi usado $[\text{Co}(\text{C}_4\text{IM})_4]\text{Cl}_2$ apenas 24,0% do metal inicialmente adicionado permanece na amostra, enquanto que para $[\text{Ni}(\text{C}_4\text{IM})_4]\text{Cl}_2$ é de 40,4%,

conseqüentemente, pode-se afirmar que a quantidade de MIL recuperada durante o procedimento de preparo de amostras é maior para $[\text{Co}(\text{C}_4\text{IM})_4]\text{Cl}_2$ do que para $[\text{Ni}(\text{C}_4\text{IM})_4]\text{Cl}_2$, o que pode implicar numa maior eficiência de extração deste primeiro quando comparada ao segundo como foi visto na Figura 25.

6.3.2 Planejamento Doehlert para determinação de tempo de extração e massa de MIL utilizado

Como visto no trabalho desenvolvido na seção 5, tempo de extração e massa de CP adicionada são dois fatores importantes para obtenção dos melhores resultados. Dessa maneira, estes fatores foram avaliados utilizando um planejamento de experimentos do tipo *Doehlert* para avaliar massas de CP que variaram de 4 a 12 mg e tempos de extração que variaram de 10 a 90 min. Para avaliação dos resultados foram utilizadas as médias geométricas das áreas cromatográficas dos analitos para cada uma das condições experimentais, e com auxílio do *software* Statsoft Statistica® foi possível obter a superfície de resposta apresentada na Figura 26. Este modelo matemático apresentou um coeficiente de determinação (R^2) de 0,702, sem apresentar falta de ajuste como pode ser visto na tabela ANOVA apresentada no apêndice como Tabela A14, sendo considerado adequado para seleção dessas condições experimentais.

Figura 26. Superfície de resposta obtida para o planejamento Doehlert utilizado para seleção de tempo de extração e quantidade de CP. Condições: 1,2 mL de amostra de cachaça fortificada em $150 \mu\text{g L}^{-1}$, volumes variados de uma solução hidroalcoólica de $[\text{Co}(\text{C}_4\text{IM})_4]\text{Cl}_2$ 40 g L^{-1} e uma solução aquosa de LiNTf_2 92 g L^{-1} , mantendo a proporção 1:2 ($[\text{Co}(\text{C}_4\text{IM})_4]\text{Cl}_2$: LiNTf_2).



Como visto na Figura 26, melhores eficiências de extração são obtidas quando maiores tempos de extração e massa de CP são utilizadas. O uso de maiores tempos de extração pode levar a um aumento da quantidade de analito extraído, devido a uma maior interação com este. É visto na Figura 26 uma tendência de melhores resultados ao utilizar tempos ainda maiores que 90 minutos, mas estes não foram testados pois a resposta analítica obtida nesta condição já era satisfatória e garantiria uma maior frequência analítica.

Já, o uso de maiores massas pode estar relacionado com um aumento na eficiência de extração devido à maior quantidade de fase extratora disponível para interagir com o analito. Além disso, isso pode estar relacionado com a solubilidade do MIL na amostra e quantidade deste recuperada após o procedimento de preparo de amostras. Observou-se que maiores quantidades de MIL eram recuperadas quando maiores massas de CP eram utilizadas, diferente do trabalho apresentado na seção 5 em que quando maiores massas eram utilizadas menos MIL era recuperado no ímã ao fim da extração, ficando principalmente no fundo do frasco. Ademais, foi comparada a porcentagem de metal que permanecia na amostra após o procedimento de extração utilizando as condições otimizadas do trabalho apresentado na seção 5

para água e cachaça, sendo que os resultados são apresentados na Tabela 5, presente na seção 4.2.2.1. Como pode ser visto, a quantidade de MIL que permanece na amostra após o procedimento de extração quando 4 mg de CP é utilizado é maior na cachaça do que na água. Dessa maneira, foram selecionados como condições compromisso 10 mg de $[\text{Co}(\text{C}_4\text{IM})_4]\text{Cl}_2$ e 90 minutos de extração.

6.3.3 Obtenção dos parâmetros analíticos de mérito

As curvas de calibração foram construídas em amostras simuladas de cachaça produzidas utilizando etanol e água ultrapura em uma proporção de 40% (EtOH:H₂O (v/v)). Essas amostras foram fortificadas em ao menos 5 níveis de concentração em triplicata e submetidas ao procedimento otimizado de preparo de amostra. Os parâmetros analíticos de mérito obtidos são apresentados na Tabela 17. Os valores de LOD e LOQ foram 7,5 e 25 $\mu\text{g L}^{-1}$ para FLU, PHEN, ANT, FLT, PYR e IP, 3 e 10 $\mu\text{g L}^{-1}$ para CRY e BaA, 1,5 e 5 $\mu\text{g L}^{-1}$ para BbF, DBahA e BghiP e 0,3 e 1 $\mu\text{g L}^{-1}$. Os valores de coeficiente de determinação para as curvas analíticas foram todos superiores a 0,991, conforme a RDC 166 de 2017 (ANVISA, 2017) os valores de coeficiente de correlação (r) devem ser superiores a 0,990, dessa forma, os valores aceitáveis de R^2 são maiores que aproximadamente 0,98, e, portanto, os valores encontrados podem ser considerados adequados. As faixas lineares de trabalho variaram do valor de LOQ encontrado até 150 $\mu\text{g L}^{-1}$. Além disso, foram calculados os valores de fator de enriquecimento para o método desenvolvido que variaram de 5,4 a 10,1, mostrando que com o presente método há um ganho de sinal analítico de 5,4 a 10,1 vezes.

Tabela 17. Parâmetros analíticos de mérito obtidos para aplicação do método otimizado em soluções hidroalcoólicas (40%, v:v) fortificadas.

Analito	LOD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LOQ ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Faixa linear ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Equação linear	R^2	EF
FLU	7,5	25	25 - 150	$y = 994.31x - 4241.51$	0,992	7,5
PHEN	7,5	25	25 - 150	$y = 3070.07x - 13716.20$	0,992	8,0
ANT	7,5	25	25 - 150	$y = 1638.57x - 9653.42$	0,991	5,4
FLT	7,5	25	25 - 150	$y = 3016.12x - 20678.62$	0,997	9,8
PYR	7,5	25	25 - 150	$y = 3113.23x - 20957.98$	0,999	10,1

Tabela 17. Parâmetros analíticos de mérito obtidos para aplicação do método otimizado em soluções hidroalcólicas (40%, v:v) fortificadas. (Continuação)

Analito	LOD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LOQ ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Faixa linear ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Equação linear	R ²	EF
CRY + BaA	3	10	10 - 150	$y = 6728.13x - 728.37$	0,995	9,1
BbF	1,5	5	5 - 150	$y = 2759.38x + 928,86$	0,997	9,4
BaP	0,3	1	1 - 150	$y = 2704.06x + 223.56$	0,997	9,2
DBahA	1,5	5	5 - 150	$y = 4509.40x + 825.23$	0,995	9,6
BghiP	1,5	5	5 - 150	$y = 2349.26x - 269.36$	0,993	9,9
IP	7,5	25	25 - 150	$y = 3698.39x - 26438.39$	0,991	8,9

* Sendo limite de detecção (LOD), limite de quantificação (LOQ), faixa linear de trabalho, equação linear, coeficiente de determinação (R²) e fator de enriquecimento (EF).

Fonte: Autoria própria, 2023.

Em seguida, foram realizados ensaios a fim de averiguar a precisão do método através da precisão intradia e interdia. Para isso foram utilizadas amostras de cachaça simulada preparadas com água ultrapura e etanol na proporção de 40% (v/v) fortificadas em 3 níveis de concentração (LOQ, 75 e 150 $\mu\text{g L}^{-1}$) para precisão intradia e em um nível de concentração (75 $\mu\text{g L}^{-1}$) para precisão interdia. Os resultados estão apresentados na Tabela 18 como o desvio padrão relativo de 3 e 9 replicatas. Os valores de precisão intradia e interdia variaram de 8,2 a 20,8% e 21,0 a 26,2%, respectivamente. De acordo com a AOAC os valores aceitáveis para concentrações de 10 e 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ é de 21 e 15%, respectivamente. Apesar de alguns resultados se encontrarem fora da faixa aceitável, principalmente para precisão interdia, as diferenças entre os valores divergentes e o aceitável é pequena. Essa variação pode estar relacionada a produção *in situ* da fase extratora e sua solubilidade parcial na amostra, que poderiam afetar as respostas, mas apesar disso, é possível dizer que os resultados encontrados são adequados para garantir a exatidão do método.

Tabela 18. Valores obtidos de precisão para o método de Pa-DDE para amostras simuladas de cachaça.

Analito	Concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Precisão	
		Intradia (n=3)	Interdia (n=9)
FLU	25	13,9	
	75	10,6	22,6
	150	14,3	

Tabela 18. Valores obtidos de precisão para o método de Pa-DDE para amostras simuladas de cachaça. (Continuação)

Analito	Concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Precisão (RSD)	
		Intradia (n=3)	Interdia (n=9)
PHEN	25	14,7	21,7
	75	13,5	
	150	14,6	
ANT	25	20,8	26,2
	75	14,0	
	150	17,3	
FLT	25	19,2	22,5
	75	16,5	
	150	11,8	
PYR	25	16,9	22,0
	75	16,1	
	150	12,1	
CRY +BaA	10	14,2	23,1
	75	18,7	
	150	10,3	
BbF	5	19,7	21,5
	75	16,2	
	150	12,6	
BaP	1	18,6	21,0
	75	17,8	
	150	17,3	
DBahA	5	18,6	23,2
	75	16,7	
	150	8,6	
BghiP	5	11,6	22,4
	75	16,7	
	150	12,7	
IP	25	9,2	24,5
	75	15,8	
	150	8,2	

Fonte: Autoria própria, 2023.

A fim de garantir a exatidão do método, ensaios de recuperação relativa foram realizados em quatro amostras de cachaça (A, B, C e D) e uma amostra de rum (E) fortificadas em três níveis de concentração (25, 75, 150 $\mu\text{g L}^{-1}$) sendo que todas essas amostras apresentaram um teor alcoólico próximo a 40% (v/v). Antes de realizar esses ensaios foram preparadas e analisadas essas amostras sem a adição de padrão e nenhum dos analitos foi detectado e, por isso, essas amostras foram consideradas

adequadas para determinar a exatidão do método. Os resultados são apresentados na Tabela 19.

Tabela 19. Estudos de recuperação relativa para o método de Pa-DDE para amostras de cachaça

Analito	Concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Recuperação relativa (%RR \pm desvio padrão)				
		A	B	C	D	E
FLU	25	66,5 ($\pm 28,8$)	82,8 ($\pm 0,9$)	77,9 ($\pm 14,7$)	65,6 ($\pm 5,8$)	94,3 ($\pm 5,5$)
	75	73,8 ($\pm 11,0$)	73,6 ($\pm 22,9$)	105,5 ($\pm 19,8$)	100,2 ($\pm 23,6$)	94,5 ($\pm 13,2$)
	150	89,9 ($\pm 24,6$)	115,0 ($\pm 20,5$)	103,0 ($\pm 7,6$)	63,2 ($\pm 17,0$)	70,9 ($\pm 18,5$)
PHEN	25	78,0 ($\pm 15,4$)	87,5 ($\pm 14,6$)	150,1 ($\pm 34,4$)	109,7 ($\pm 31,9$)	106,9 ($\pm 21,8$)
	75	66,5 ($\pm 13,3$)	73,9 ($\pm 20,8$)	94,8 ($\pm 26,7$)	74,1 ($\pm 19,3$)	96,3 ($\pm 16,2$)
	150	86,4 ($\pm 21,8$)	103,6 ($\pm 17,1$)	97,3 ($\pm 19,6$)	62,2 ($\pm 7,0$)	68,3 ($\pm 5,7$)
ANT	25	89,1 ($\pm 14,2$)	91,1 ($\pm 17,9$)	*	89,5 ($\pm 7,7$)	88,5 ($\pm 17,9$)
	75	81,4 ($\pm 20,1$)	107,5 ($\pm 28,2$)	96,3 ($\pm 10,9$)	78,4 ($\pm 19,3$)	78,7 ($\pm 11,3$)
	150	71,8 ($\pm 21,4$)	67,2 ($\pm 9,5$)	82,8 ($\pm 22,6$)	57,2 ($\pm 15,1$)	58,2 ($\pm 5,6$)
FLT	25	70,7 ($\pm 12,9$)	85,9 ($\pm 13,3$)	*	*	111,1 ($\pm 22,0$)
	75	72,4 ($\pm 6,2$)	75,2 ($\pm 21,4$)	81,3 ($\pm 7,4$)	*	103,0 ($\pm 20,6$)
	150	90,9 ($\pm 26,2$)	103,3 ($\pm 22,1$)	79,3 ($\pm 18,4$)	*	72,3 ($\pm 7,4$)
PYR	25	78,3 ($\pm 16,4$)	90,0 ($\pm 11,0$)	117,6 ($\pm 7,9$)	52,1 ($\pm 0,5$)	117,7 ($\pm 22,5$)
	75	71,2 ($\pm 10,0$)	75,8 ($\pm 17,5$)	115,3 ($\pm 11,9$)	70,3 ($\pm 20,3$)	91,3 ($\pm 32,9$)
	150	87,9 ($\pm 25,2$)	101,8 ($\pm 19,7$)	89,7 ($\pm 21,4$)	59,7 ($\pm 1,7$)	69,6 ($\pm 7,6$)
CRY + BaA	25	66,0 ($\pm 13,7$)	74,1 ($\pm 9,2$)	97,8 ($\pm 24,0$)	97,1 ($\pm 15,0$)	88,7 ($\pm 19,5$)
	75	65,5 ($\pm 4,8$)	109,9 ($\pm 10,3$)	110,9 ($\pm 14,8$)	62,2 ($\pm 20,8$)	89,9 ($\pm 23,8$)
	150	88,8 ($\pm 25,6$)	97,5 ($\pm 18,5$)	90,3 ($\pm 25,1$)	57,0 ($\pm 3,3$)	65,6 ($\pm 7,4$)
BbF	25	58,4 ($\pm 16,8$)	74,1 ($\pm 7,8$)	92,5 ($\pm 12,6$)	105,8 ($\pm 13,3$)	99,6 ($\pm 19,9$)
	75	66,8 ($\pm 4,8$)	72,8 ($\pm 17,5$)	101,8 ($\pm 22,3$)	67,5 ($\pm 21,9$)	97,5 ($\pm 28,3$)
	150	93,5 ($\pm 28,0$)	84,4 ($\pm 15,8$)	90,4 ($\pm 17,5$)	62,6 ($\pm 5,5$)	69,6 ($\pm 8,6$)
BaP	25	61,0 ($\pm 17,2$)	72,3 ($\pm 7,3$)	90,4 ($\pm 12,1$)	97,3 ($\pm 13,0$)	92,5 ($\pm 18,5$)
	75	65,7 ($\pm 3,4$)	72,0 ($\pm 17,6$)	101,1 ($\pm 22,4$)	65,6 ($\pm 21,6$)	94,4 ($\pm 27,9$)
	150	94,2 ($\pm 28,0$)	79,4 ($\pm 13,5$)	92,0 ($\pm 22,1$)	60,7 ($\pm 5,7$)	67,5 ($\pm 8,5$)

*Valores de recuperação não foram possíveis de serem estimados nestes pontos.

Tabela 19. Estudos de recuperação relativa para o método de Pa-DDE para amostras de cachaça. (Continuação)

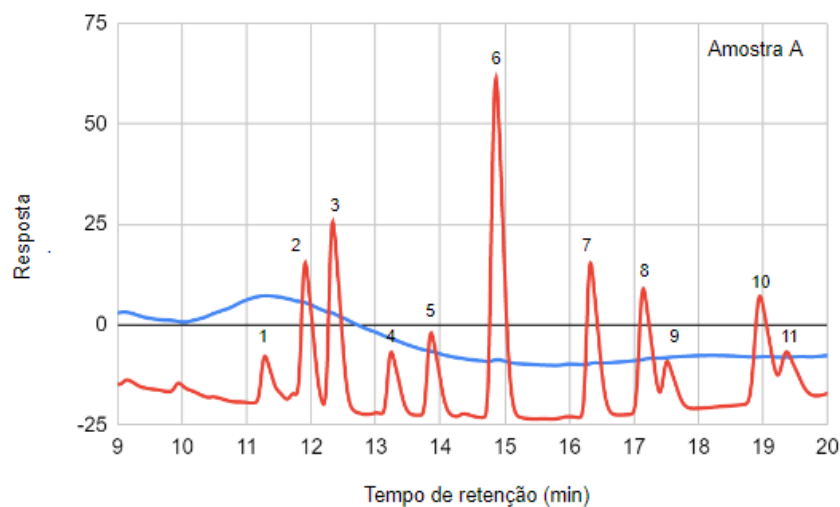
Analito	Concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Recuperação relativa (%RR \pm desvio padrão)				
		A	B	C	D	E
DBahA	25	59,0 (± 21)	65,8 ($\pm 7,0$)	88,6 ($\pm 11,6$)	96,3 ($\pm 12,3$)	87,7 ($\pm 16,2$)
	75	66,7 ($\pm 3,7$)	68,9 ($\pm 18,0$)	87,9 ($\pm 23,6$)	67,2 ($\pm 22,2$)	95,5 ($\pm 32,3$)
	150	98,7 ($\pm 29,2$)	85,7 ($\pm 22,2$)	84,6 ($\pm 18,8$)	65,2 ($\pm 7,5$)	67,1 ($\pm 9,3$)
BghiP	25	55,8 ($\pm 18,2$)	66,1 ($\pm 7,2$)	92,8 ($\pm 17,6$)	103,1 ($\pm 12,2$)	91,2 ($\pm 16,7$)
	75	68,0 ($\pm 4,0$)	70,7 ($\pm 16,7$)	110,7 ($\pm 24,7$)	69,7 ($\pm 22,5$)	95,4 ($\pm 31,8$)
	150	97,4 ($\pm 28,6$)	97,9 ($\pm 20,1$)	90,8 ($\pm 16,2$)	65,4 ($\pm 6,9$)	67,6 ($\pm 9,4$)
IP	25	70,4 ($\pm 17,6$)	80,1 ($\pm 4,6$)	103,3 ($\pm 8,0$)	110,9 ($\pm 7,4$)	116,8 ($\pm 16,0$)
	75	68,1 ($\pm 6,0$)	69,9 ($\pm 15,7$)	108,4 ($\pm 22,9$)	71,4 ($\pm 18,1$)	99,5 ($\pm 28,8$)
	150	94,0 ($\pm 26,4$)	89,9 ($\pm 22,9$)	85,2 ($\pm 16,6$)	64,4 ($\pm 4,4$)	68,0 ($\pm 9,0$)

*Valores de recuperação não foram possíveis de serem estimados nestes pontos.

Fonte: Autoria própria, 2023.

Para a amostra A os valores de recuperação relativa variaram de 55,8 a 98,7%. Segundo a AOAC para a faixa de concentração de $10 \mu\text{g L}^{-1}$ são aceitáveis valores de 60 a 115%, já para a faixa de concentração de $100 \mu\text{g L}^{-1}$ são aceitos valores entre 80 e 110%. Apesar de que alguns valores para $25 \mu\text{g L}^{-1}$ encontram-se fora dessa faixa, ainda sim estão bem próximos e, por isso, podem ser considerados adequados. Essa pequena variação dos valores aceitáveis pode estar relacionada com a complexidade da amostra de cachaça que além de água e etanol pode conter diferentes compostos provenientes do processo de produção da cachaça. A produção de cachaça pode ou não envolver um processo de envelhecimento realizado em barris de madeira, que pode ser responsável pela produção de diferentes compostos, que afetam questões sensoriais relacionadas a bebida (LIMA et al., 2022) e que podem vir a afetar a eficiência de extração. A seguir são apresentados os cromatogramas do extrato da amostra com e sem fortificação na Figura 27.

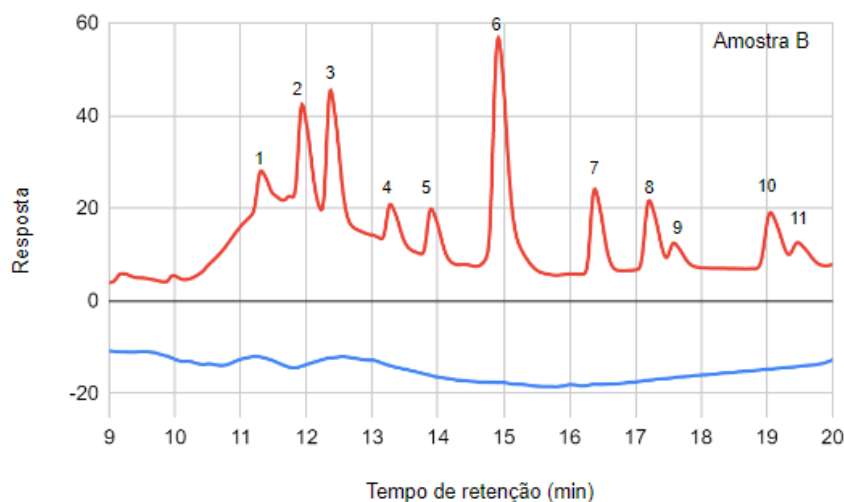
Figura 27. Cromatogramas em 254 nm dos extratos da amostra A sem fortificação (azul) e fortificada em $150 \mu\text{g L}^{-1}$ (vermelha). Sendo: 1) FLU, 2) PHEN, 3) ANT, 4) FLT, 5) PYR, 6) CRY + BaA, 7) BbF, 8) BaP, 9) DBahA, 10) BghiP e 11) IP.



Fonte: Autoria própria, 2023.

Já, para a amostra B os valores variaram de 65,8 a 115,0 %. A Figura 28 apresenta os cromatogramas do extrato da amostra com e sem fortificação. Para essa amostra a maioria dos resultados encontra-se na faixa aceitável de acordo com AOAC. Essa amostra estava armazenada em embalagem de plástico e é uma cachaça de menor custo, provavelmente apresentando menos etapas durante sua produção. Com isso, pode-se dizer que essa amostra tem uma menor complexidade, o que justificaria seus valores de recuperação relativa serem próximos ao ideal.

Figura 28. Cromatogramas em 254 nm dos extratos da amostra B sem fortificação (azul) e fortificada em $150 \mu\text{g L}^{-1}$ (vermelha). Sendo: 1) FLU, 2) PHEN, 3) ANT, 4) FLT, 5) PYR, 6) CRY + BaA, 7) BbF, 8) BaP, 9) DBahA, 10) BghiP e 11) IP.



Fonte: Autoria própria, 2023.

Os valores de recuperação relativa para a amostra C variaram de 77,9 a 150,1% e a Figura 29 apresenta os cromatogramas dos extratos da amostra com e sem fortificação. Para o ANT e FLT não foi possível calcular a recuperação para os pontos de $25 \mu\text{g L}^{-1}$, isso pode estar relacionado com a maior complexidade dessa amostra. Diferente da amostra B, sabe-se que essa amostra passa por um processo de envelhecimento de ao menos 12 meses em barris de Freijó, o que poderia justificar uma maior complexidade dessa amostra. Pode-se ver no cromatograma do extrato da amostra sem fortificação na Figura 29 que a linha de base é bastante ruidosa, além disso é possível ver que para os analitos em que a recuperação não foi possível de ser obtida para a menor concentração, existem interferentes com tempo de retenção bem próximos, isso poderia justificar um erro maior para essa concentração, uma vez que pequenas variações nas áreas menores, pode gerar uma variação maior do resultado esperado. Apesar disso, novamente em sua maioria os resultados de recuperação relativa foram considerados adequados para garantir a exatidão do método.

Figura 29. Cromatogramas em 254 nm dos extratos da amostra C sem fortificação (azul) e fortificada em $150 \mu\text{g L}^{-1}$ (vermelha). Sendo: 1) FLU, 2) PHEN, 3) ANT, 4) FLT, 5) PYR, 6) CRY + BaA, 7) BbF, 8) BaP, 9) DBahA, 10) BghiP e 11) IP.

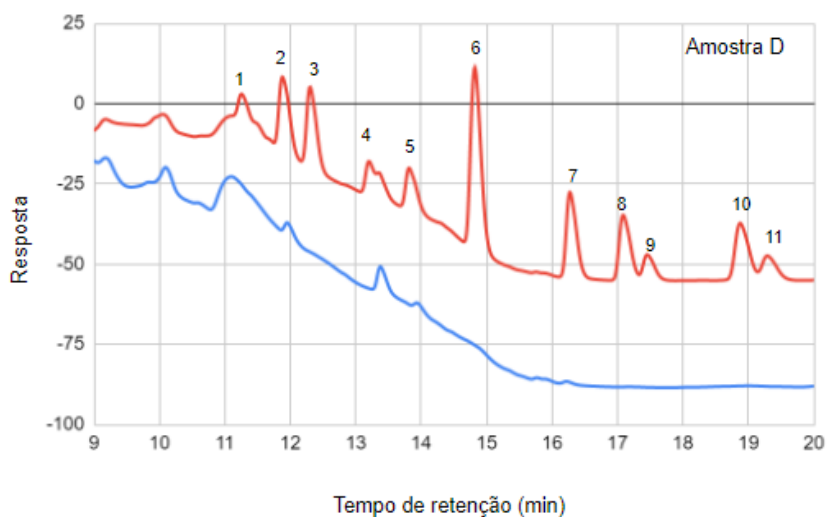


Fonte: Autoria própria, 2023.

A amostra D por sua vez também apresenta um processo de envelhecimento, sendo de 2 anos em tonéis de carvalho europeu e jequitibá rosa. A Figura 30 apresenta os cromatogramas dos extratos dessa amostra sem e com fortificação. Como pode-se ver no cromatograma do extrato de uma amostra sem fortificação,

novamente há a presença de alguns interferentes, sendo que para o FLT há um interferente com tempo de retenção bem próximo, o que impediu que a recuperação fosse obtida para esse analito. Os demais valores de recuperação variaram de 52,1 a 110,9%. Apesar de novamente alguns valores estarem divergentes dos valores esperados, se encontram bastante próximos e por isso podem ser considerados adequados, sendo que esta variação novamente pode estar relacionada com a composição da matriz.

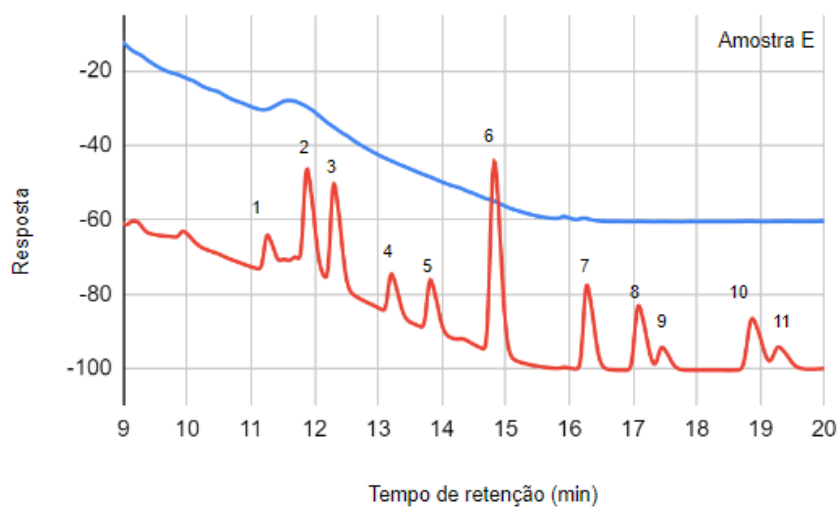
Figura 30. Cromatogramas em 254 nm dos extratos da amostra D sem fortificação (azul) e fortificada em $150 \mu\text{g L}^{-1}$ (vermelha). Sendo: 1) FLU, 2) PHEN, 3) ANT, 4) FLT, 5) PYR, 6) CRY + BaA, 7) BbF, 8) BaP, 9) DBahA, 10) BghiP e 11) IP.



Fonte: Autoria própria, 2023.

Por fim, foi feita a recuperação relativa em uma amostra de rum e os cromatogramas dos extratos dessa amostra sem e com fortificação são apresentados na Figura 31. Os valores de recuperação relativa variaram de 58,2 a 117,7% estando de acordo com a faixa aceitável. Pequenas variações são esperadas uma vez que assim como a as amostras de cachaça, o rum pode conter diferentes compostos provenientes de sua produção que podem afetar a eficiência de extração.

Figura 31. Cromatogramas em 254 nm dos extratos da amostra E sem fortificação (azul) e fortificada em $150 \mu\text{g L}^{-1}$ (vermelha). Sendo: 1) FLU, 2) PHEN, 3) ANT, 4) FLT, 5) PYR, 6) CRY + BaA, 7) BbF, 8) BaP, 9) DBahA, 10) BghiP e 11) IP.



Fonte: Autoria própria, 2023.

6.3.4 Comparação com demais métodos da literatura

As principais características do método desenvolvido foram comparadas com outros trabalhos encontrados na literatura para a determinação de HPAs em diferentes amostras, sendo apresentadas na Tabela 20. Poucos estudos foram encontrados para a determinação de HPAs em amostras de cachaça, sendo que não foram encontrados trabalhos que utilizavam materiais extratores alternativos. Foram encontrados métodos que utilizam técnicas clássicas como a SPE (BARBOSA et al., 2022; MACHADO et al., 2014), porém como pode ser visto na Tabela 20 são utilizadas grandes quantidades de amostra, além de que na SPE os cartuchos são utilizados uma única vez, dessa forma gerando uma maior quantidade de resíduos. Outras técnicas foram relatadas como um método QuEChERS modificado (DA SILVA et al., 2019b) e microextração por emulsificação assistida por ultrassom (USAEME) (CACHO et al., 2016), apesar de essas técnicas utilizarem um volume menor de amostra, ainda utilizam solventes orgânicos clorados como fase extratora.

O método apresentado no presente trabalho é uma alternativa interessante uma vez que utiliza um volume reduzido de amostra e fase extratora, gerando uma quantidade menor de resíduos, além de utilizar menores tempos de preparo por amostra quando comparado aos outros métodos. Isso pode ser destacado pelo valor calculado pela escala AGREEprep, sendo que o presente método apresentou o maior

valor quando comparado aos outros da literatura, 0,58. Os valores de AGREEprep e como foram calculados estão apresentados na Tabela A15 do Apêndice. Ademais, o uso de MILs traz como vantagem o aumento da segurança do analista, uma vez que eles apresentam baixa a negligenciável pressão de vapor. Apesar de que os LOQs obtidos pelo presente método serem maiores que os encontrados na literatura, isso pode ser decorrente da instrumentação utilizada, sendo que se equipamentos mais sensíveis fossem usados poderia se chegar em limites menores. Os valores de LOQ para o presente método podem ser considerados adequados uma vez que não há legislação para essas amostras.

Na Tabela 20 são apresentados alguns exemplos de métodos desenvolvidos utilizando MILs para a determinação de HPAs. Como pode-se ver, a maioria desses trabalhos fez a análise de amostras de água, mostrando mais um diferencial do presente trabalho, uma vez que as amostras de cachaça contêm um teor alcoólico de até 40% além de outros compostos orgânicos que podem influenciar na solubilidade do MIL na amostra e, por consequência, afetar a eficiência de extração. Além disso, há as vantagens de se aliar os MILs ao sistema de placas de poços de amostragem como o aumento da frequência analítica e a redução da manipulação da amostra por utilizar esse sistema semi-automatizado.

Também, o uso de MILs formados *in situ* foi relatado em sua maioria para análise de amostras de água, com exceção do trabalho de Yao e Du (2020) que realizaram a análise de sulfonamidas em amostras de leite, porém neste trabalho foi utilizado um MIL *in situ* em que o componente paramagnético era um radical orgânico. No presente caso, o componente paramagnético é um complexo de Co(II) tetracoordenado, sendo que a formação do MIL hidrofóbico é afetada pela complexidade da matriz, como pode ser visto nos estudos de solubilidade do MIL formado quando comparado as matrizes de água e cachaça, como já apresentado na Tabela 5. Dessa maneira, este trabalho é pioneiro no uso de MILs formados *in situ* a base de metais coordenados para análise de amostras de maior complexidade aliada ao sistema de placas de poços de amostragem.

Tabela 20. Tabela comparativa de métodos encontrados na literatura para determinação de HPAs em amostras de bebidas alcoólicas.

Amostra	Técnica de prepare de amostras	Instrumentação	Fase extratora	Tempo de extração por amostra (min)	Volume de amostra (mL)	LOQ ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Ref
Cachaça	SPE	GC-MS	C18	Não encontrado	50	0,20 – 0,30	MACHADO <i>et al.</i> , 2014
Cachaça	QuEChERS	GC-MS/MS	diclorometano	>11	20	0,25	DA SILVA <i>et al.</i> , 2019
Cachaça	SPE	HPLC-DAD	ODS-5 octadecil	-	50	0,21 – 0,62	BARBOSA <i>et al.</i> , 2022
Bebidas alcoólicas	USAEME	GC-MS	Tetracloroeto de carbono	<5	5	0,006 – 0,021	CACHO <i>et al.</i> , 2016
Água e infusão de chá	DLLME	HPLC-FLD	[N _{8,8,8}] [FeCl ₃ Br]	>5	10	0,02 – 0,05	TRUJILLO-RODRÍGUEZ <i>et al.</i> , 2016
Água	DLLME	HPLC-UV	[P _{6,6,6,14} ⁺] ₂ [MnCl ₄ ²⁻]	2	5	1	(YU; MERIB; ANDERSON, 2016)
Água	SBDLME	TD-GC-MS	[P _{6,6,6,14}][Ni(hfacac) ₃]	10	25	0,017 – 0,287	(BENEDÉ; ANDERSON; CHISVERT, 2018)
Água	DLLME	HPLC-DAD	[Ni(C ₄ IM) ₄ ²⁺] ₂ [Cl ⁻] e [Ni(BeIM) ₄ ²⁺] ₂ [Cl ⁻]	3	5	0,43 – 3,1	(TRUJILLO-RODRÍGUEZ; ANDERSON, 2019a)
Cachaça e Rum	In situ MIL Pa-DDE	HPLC-DAD	[Co(C ₄ IM) ₄][NTf ₂] ₂	0,94	1,2	1 - 25	Este trabalho

Fonte: Autoria própria, 2023.

6.4 CONSIDERAÇÕES PARCIAIS

Esse trabalho demonstrou a aplicação bem sucedida da método proposta na seção 5 para aplicação em amostras de cachaça e rum. Há poucos trabalhos que exploram o uso de MILs formados *in situ* em técnicas de microextração e, em sua maioria, eles são utilizados para preparo de amostras de água, o que pode estar relacionado com a dificuldade de expandir a aplicabilidade desses MILs para amostras mais complexas. De fato, notou-se uma certa dificuldade em encontrar amostras que eram compatíveis com os MILs utilizados neste trabalho. A produção desses MILs em amostras de cachaça foi sucedida e, portanto, essa amostra foi selecionada para expandir a aplicação desses MILs para a determinação de HPAs.

Notou-se diferenças nas condições experimentais quando comparadas ao trabalho desenvolvido anteriormente, principalmente relacionadas a quantidade de MIL utilizado. Nas amostras de cachaça era necessário utilizar uma quantidade maior de MIL quando comparado a amostra de água, o que pode estar relacionada ao rendimento da reação de formação do MIL hidrofóbico, que pode ser alterada por conta de interações com outros componentes da matriz, ou com a solubilidade do produto formado, uma vez que as amostras de cachaça apresentam teor alcoólico de aproximadamente 40% (v/v).

A combinação dos MILs formados *in situ* com o sistema de 96 poços de amostragem permitiu o desenvolvimento de um método de alta frequência analítica para a determinação de HPAs em amostras de cachaça e rum. O método foi otimizado e validado. Os principais parâmetros analíticos de mérito foram obtidos através de curvas de calibração construídas em soluções hidroalcólicas (simulação de amostra de cachaça) e apresentaram resultados satisfatórios. Os LOQs variaram de 1 a 25 $\mu\text{g L}^{-1}$ e os valores de R^2 foram todos maiores que 0,991. A precisão também foi considerada adequada com valores que variaram de 8,2 a 20,8% para a precisão intradia e menores que 26,2% para precisão interdia. A exatidão foi avaliada por meio de ensaios de recuperação relativa cujos valores, em sua maioria, foram considerados adequados, com algumas exceções as quais podem estar relacionadas as variações na composição das amostras de cachaça e rum, podendo ter interferentes provenientes de diferentes processos de produção.

Por fim, as principais características do método foram comparadas com outras estratégias disponíveis na literatura. O presente método destaca-se por sua alta

frequência analítica, com tempos de preparo por amostra menores que 1 minuto. Além disso, seu baixo consumo de amostra e solvente lhe conferem uma baixa geração de resíduos, estando de acordo com os princípios da Química Analítica Verde e do preparo de amostras verde. Portanto, pode-se dizer que o presente trabalho é uma alternativa verde aos métodos apresentados na literatura para determinação de HPAs em bebidas destiladas, uma vez que em sua maioria utilizam técnicas clássicas como a SPE.

7 CONCLUSÕES FINAIS E PERSPECTIVAS

O presente trabalho descreveu aplicações do uso de MILs formados *in situ* para a extração de diversos compostos em combinação com o sistema de placas de 96 poços de amostragem, resultando em métodos de alta frequência analítica, sendo descrita como extração em gota dispersiva paralela (Pa-DDE). Os MILs na sua forma hidrofóbica podem ser de difícil manipulação, pois geralmente apresentam alta viscosidade. Por outro, essa nova classe de MILs é transformada em hidrofóbica somente na amostra, o que permite que eles sejam adicionados em solução aquosa, tornando mais fácil a sua manipulação e evitando possíveis erros. Além disso, como ele só é formado depois de estar solúvel na amostra, após a reação várias gotículas do MIL dispersas por toda a amostra são formadas o que aumenta a superfície de contato com o analito.

Porém, algumas limitações podem ser observadas como o aumento da pressão residual e sinal de fundo alto proveniente do MIL quando é utilizado o HPLC-DAD, além de dificuldades em expandir a aplicabilidade desses MILs a amostras variadas. O aumento da pressão em sistema de HPLC pode ocorrer após algumas injeções e pode estar relacionada a interação do MIL com a fase estacionária da coluna utilizada e seu acúmulo com o passar das injeções. Já o sinal de fundo alto no HPLC-DAD está correlacionado possivelmente com uma absorção do MIL. Para garantir a solubilidade do MIL na fase móvel, proporções maiores de 50% de ACN foram utilizadas no início da corrida, garantindo que a maior influência do sinal do MIL estivesse no início da corrida.

Primeiramente, a Pa-DDE utilizando um MIL formado *in situ* foi aplicado para a determinação de três filtros UV (BZF, 4-MBC e EHMC), um antimicrobiano (TCC) e dois agrotóxicos (PDM e MTC) em amostras de água ambiental. A metodologia foi otimizada por estratégias univariadas e multivariadas e validada. Os valores dos parâmetros analíticos de mérito foram considerados adequados. O método desenvolvido destaca-se pelo consumo reduzido de amostra e fase extratora, diminuindo a quantidade de resíduos. Além disso, com o uso do sistema de 96 poços de amostragem o tempo de preparo por amostra é de menos de 1 minuto. Estas características o torna uma alternativa mais verde e em conformidade com os princípios do preparo de amostras verde.

Em seguida, foi avaliada a aplicação desse MIL em amostras de bebidas destiladas, porém foram observadas dificuldades para seleção destas. Isso pode estar relacionado com a reação de formação do MIL que pode ser afetada por componentes da matriz ou pode estar relacionada com a solubilidade do MIL formado na amostra. A cachaça e rum foram selecionados para demonstrar a aplicabilidade da *in situ* MIL/Pa-DDE. Foram feitas medidas por espectrometria de absorção atômica em chama (FAAS) para determinar a quantidade de metal (proveniente do MIL) que permanecia na amostra. Com isso foi possível ver que nas mesmas condições a amostra de cachaça tinha uma quantidade maior de metal na amostra após a extração do que a água, exemplificando essa dificuldade de formação do MIL hidrofóbico em amostras de maior complexidade.

A aplicação da Pa-DDE e dos MILs formados *in situ* em amostras de cachaça e rum foi utilizada para a determinação de HPAs. O método otimizado foi validado e apresentou valores satisfatórios para os principais parâmetros analíticos de mérito. No entanto, alguns valores de recuperação relativa encontravam-se abaixo do esperado o que pode estar relacionado com a variabilidade de processos que podem ser aplicados a essas amostras, e, portanto, diferentes interferentes podem prejudicar a determinação desses analitos. Apesar disso, a metodologia foi considerada mais uma vez uma alternativa verde aos métodos já utilizados para a determinação de HPAs em amostras de bebidas destiladas, destacando-se por sua geração de resíduos reduzida e alta frequência analítica.

Como perspectivas sugere-se o estudo mais aprofundado das interações desses MILs com os analitos e com componentes das amostras, a fim de estudar formas de torná-los mais compatíveis com outras amostras. Além disso, é importante estudar alternativas para evitar a sua injeção nos instrumentos de análise, como exemplo, pode-se citar estratégias da literatura como a adição de etapas de extração.

REFERÊNCIAS

- ABBASI, N. M. et al. Synthesis and characterization of magnetic ionic liquids containing multiple paramagnetic lanthanide and transition metal centers and functionalized diglycolamide ligands. **Journal of Molecular Liquids**, v. 361, p. 119530, 1 set. 2022.
- ABDALLAH, I. A. et al. A gadolinium-based magnetic ionic liquid for supramolecular dispersive liquid–liquid microextraction followed by HPLC/UV for the determination of favipiravir in human plasma. **Biomedical Chromatography**, v. 36, n. 6, p. e5365, 2022.
- ABDALLAH, O. I. Simultaneous determination of nine dinitroaniline herbicides in environmental samples using a validated vortex-assisted dispersive liquid–liquid microextraction procedure coupled with GC–MS/MS. **Chemical Papers**, v. 74, n. 7, p. 2311–2326, 1 jul. 2020.
- ABDELAZIZ, M. A. et al. A Gadolinium-Based Magnetic Ionic Liquid for Dispersive Liquid–Liquid Microextraction of Ivermectin from Environmental Water. **Journal of Chromatographic Science**, p. bmac101, 20 dez. 2022.
- ABDELAZIZ, M. A.; MANSOUR, F. R.; DANIELSON, N. D. A gadolinium-based magnetic ionic liquid for dispersive liquid–liquid microextraction. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 413, n. 1, p. 205–214, 1 jan. 2021.
- 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**, v. 220, p. 121395, 1 dez. 2020.
- ALEXOVIČ, M. et al. Automation of dispersive liquid–liquid microextraction and related techniques. Approaches based on flow, batch, flow-batch and in-syringe modes. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 86, p. 39–55, 1 jan. 2017.
- ALTUNAY, N. Experimental design of magnetic ionic liquid ultrasound-assisted dispersive liquid-liquid microextraction for the determination of 5-HMF in honey samples. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 114, p. 104817, 1 dez. 2022.
- ALVES, M. S. et al. An overview of magnetic ionic liquids: From synthetic strategies to applications in microextraction techniques. **Journal of Separation Science**, p. 258–281, 2022.
- AN, J.; RAHN, K. L.; ANDERSON, J. L. Headspace single drop microextraction versus dispersive liquid-liquid microextraction using magnetic ionic liquid extraction solvents. **Talanta**, v. 167, p. 268–278, 15 maio 2017.
- ANASTAS, P. T. Green Chemistry and the Role of Analytical Methodology Development: Critical Reviews in Analytical Chemistry: Vol 29, No 3. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, v. 29, p. 167–175, 1999.

ANVISA. RESOLUÇÃO DA DIRETORIA COLEGIADA - RDC Nº 166, DE 24 DE JULHO DE 2017. . 2017.

ARMENTA, S. et al. Green extraction techniques in green analytical chemistry. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 116, p. 248–253, 1 jul. 2019.

ASK, K. S. et al. Dried blood spots and parallel artificial liquid membrane extraction—A simple combination of microsampling and microextraction. **Analytica Chimica Acta**, v. 1009, p. 56–64, 7 jun. 2018.

ASK, K. S. et al. Liquid-phase microextraction in 96-well plates - calibration and accurate quantification of pharmaceuticals in human plasma samples. **Journal of Chromatography A**, v. 1602, p. 117–123, 27 set. 2019.

BAGHERI, H. et al. A high-throughput approach for the determination of pesticide residues in cucumber samples using solid-phase microextraction on 96-well plate. **Analytica Chimica Acta**, v. 740, p. 36–42, 31 ago. 2012.

BAGHERI, H. et al. Microwave-assisted extraction and high-throughput monolithic-polymer-based micro-solid-phase extraction of organophosphorus, triazole, and organochlorine residues in apple. **Journal of Separation Science**, v. 39, n. 3, p. 576–583, 2016.

BAO, J. J. et al. The development of a high-throughput measurement method of octanol/water distribution coefficient based on hollow fiber membrane solvent microextraction technique. **Journal of Chromatography B**, v. 967, p. 183–189, 15 set. 2014.

BARBOSA, R. B. et al. Physical–Chemical Profile and Quantification of Phenolic Compounds and Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Cachaça Samples Aged in Oak (*Quercus* sp.) Barrels with Different Heat Treatments. **Food and Bioprocess Technology**, v. 15, n. 9, p. 1977–1987, 1 set. 2022.

BAZ-LOMBA, J. A. et al. A high-throughput solid-phase microextraction and post-loop mixing large volume injection method for water samples. **Journal of Chromatography A**, v. 1531, p. 32–38, 5 jan. 2018.

BEE, M. Y.; JASTRZEMBSKI, J. A.; SACKS, G. L. Parallel Headspace Extraction onto Etched Sorbent Sheets Prior to Ambient-Ionization Mass Spectrometry for Automated, Trace-Level Volatile Analyses. **Analytical Chemistry**, v. 90, n. 22, p. 13806–13813, 20 nov. 2018.

BEIRAGHI, A. et al. Magnetomotive room temperature dicationic ionic liquid: A new concept toward centrifuge-less dispersive liquid–liquid microextraction. **Journal of Chromatography A**, v. 1376, p. 1–8, 9 jan. 2015.

BELKA, M. et al. Application of 3D-printed scabbard-like sorbent for sample preparation in bioanalysis expanded to 96-wellplate high-throughput format. **Analytica Chimica Acta**, v. 1081, p. 1–5, 12 nov. 2019.

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**, v. 176, p. 253–261, 1 jan. 2018.

BERTON, P. et al. Efficient Low-Cost Procedure for Microextraction of Estrogen from Environmental Water Using Magnetic Ionic Liquids. **Molecules**, v. 26, n. 1, p. 32, jan. 2021.

BIDDLECOMBE, R. A.; BENEVIDES, C.; PLEASANCE, S. A clinical trial on a plate? The potential of 384-well format solid phase extraction for high-throughput bioanalysis using liquid chromatography/tandem mass spectrometry. **Rapid communications in mass spectrometry: RCM**, v. 15, n. 1, p. 33–40, 2001.

BIRK, L. et al. Determinations of new psychoactive substances in biological matrices with focus on microextraction techniques: a review of fundamentals and state-of-the-art extraction methods. **Forensic Toxicology**, v. 39, n. 2, p. 350–367, 1 jul. 2021.

BORIJIHAN, G. et al. Development of a novel 96-well format for liquid–liquid microextraction and its application in the HPLC analysis of biological samples. **Journal of Separation Science**, v. 37, n. 9–10, p. 1155–1161, 2014.

BOWERS, A. N. et al. Extraction of DNA with magnetic ionic liquids using in situ dispersive liquid–liquid microextraction. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 411, n. 28, p. 7375–7385, 1 nov. 2019.

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**, v. 809, p. 69–81, 27 jan. 2014.

BRASIL. PORTARIA GM/MS Nº 888, DE 4 DE MAIO DE 2021. . 2021.

BROVINI, E. M. et al. Water treatment technologies for removing priority pesticides. **Journal of Water Process Engineering**, v. 53, p. 103730, 1 jul. 2023.

BURATO, J. S. DA S. et al. Recent advances and trends in miniaturized sample preparation techniques. **Journal of Separation Science**, v. 43, n. 1, p. 202–225, 2020.

BYSTRZANOWSKA, M. et al. How green are ionic liquids? – A multicriteria decision analysis approach. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 174, p. 455–458, 15 jun. 2019.

CACHO, J. I. et al. Evaluation of the contamination of spirits by polycyclic aromatic hydrocarbons using ultrasound-assisted emulsification microextraction coupled to gas chromatography–mass spectrometry. **Food Chemistry**, v. 190, p. 324–330, 1 jan. 2016.

CAO, D. et al. An in situ derivatization combined with magnetic ionic liquid-based fast dispersive liquid-liquid microextraction for determination of biogenic amines in food samples. **Talanta**, v. 199, p. 212–219, 1 jul. 2019.

CAO, D. et al. Designed multifunctional visual observation of magnetic ionic liquid coupling with microwave-assisted derivatization for determination of biogenic amines. **Food Chemistry**, v. 333, p. 127518, 15 dez. 2020.

CARASEK, E. et al. Alternative Green Extraction Phases Applied to Microextraction Techniques for Organic Compound Determination. **Separations**, v. 6, n. 3, p. 35, set. 2019.

CARASEK, E. et al. Sustainable green solvents for microextraction techniques: Recent developments and applications. **Journal of Chromatography A**, v. 1640, p. 461944, 15 mar. 2021.

CARASEK, E.; MERIB, J. Membrane-based microextraction techniques in analytical chemistry: A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 880, p. 8–25, 23 jun. 2015.

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**, v. 19, p. e00060, 1 jul. 2018.

CARVE, M. et al. A systematic review and ecological risk assessment for organic ultraviolet filters in aquatic environments. **Environmental Pollution**, v. 268, p. 115894, 1 jan. 2021.

CHAND, D. et al. Magnetic ionic liquids based on transition metal complexes with *N*-alkylimidazole ligands. **New Journal of Chemistry**, v. 43, n. 1, p. 20–23, 2019.

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**, v. 910, p. 53–59, 3 mar. 2016.

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**, v. 1571, p. 47–54, 12 out. 2018.

CHATZIMITAKOS, T. G.; ANDERSON, J. L.; STALIKAS, C. D. Matrix solid-phase dispersion based on magnetic ionic liquids: An alternative sample preparation approach for the extraction of pesticides from vegetables. **Journal of Chromatography A**, v. 1581–1582, p. 168–172, 21 dez. 2018.

CHEN, P. et al. Weighing paper-assisted magnetic ionic liquid headspace single-drop microextraction using microwave distillation followed by gas chromatography–mass spectrometry for the determination of essential oil components in lavender. **Journal of Separation Science**, v. 44, n. 2, p. 585–599, 2021.

CHEN, Y. et al. Sequence-specific eDNA extraction using hydrophobic magnetic ionic liquids attached with oligonucleotide strand. **Analytica Chimica Acta**, v. 1239, p. 340612, 25 jan. 2023.

CHISVERT, A. et al. Introducing a new and rapid microextraction approach based on magnetic ionic liquids: Stir bar dispersive liquid microextraction. **Analytica Chimica Acta**, v. 983, p. 130–140, 29 ago. 2017.

CHO, C.-W. et al. Review of the toxic effects of ionic liquids. **Science of The Total Environment**, v. 786, p. 147309, 10 set. 2021.

CIEMNIAK, A. et al. Assessing the contamination levels of dried teas and their infusions by polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). **Journal of Consumer Protection and Food Safety**, v. 14, n. 3, p. 263–274, 1 set. 2019.

CLARK, K. D. et al. Extraction of DNA by Magnetic Ionic Liquids: Tunable Solvents for Rapid and Selective DNA Analysis. **Analytical Chemistry**, v. 87, n. 3, p. 1552–1559, 3 fev. 2015.

CLARK, K. D. et al. Ionic liquids: solvents and sorbents in sample preparation. **Journal of Separation Science**, v. 41, n. 1, p. 209–235, 2018.

CUDJOE, E. et al. Investigation of the Effect of the Extraction Phase Geometry on the Performance of Automated Solid-Phase Microextraction. **Analytical Chemistry**, v. 81, n. 11, p. 4226–4232, 1 jun. 2009.

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**, v. 2, n. 2, p. 51–58, 2019a.

DA SILVA, M. C. et al. Simultaneous Extraction of Pesticides and Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Brazilian Cachaça Using a Modified QuEChERS Method Followed by Gas Chromatography Coupled to Tandem Mass Spectrometry Quantification. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 67, n. 1, p. 399–405, 9 jan. 2019b.

DE SILVA, S. et al. Isolation of DNA from plant tissues using a miniaturized matrix solid-phase dispersion approach featuring ionic liquid and magnetic ionic liquid solvents. **Analytica Chimica Acta**, v. 1245, p. 340858, 8 mar. 2023.

DELIŃSKA, K.; YAVIR, K.; KLOSKOWSKI, A. Ionic liquids in extraction techniques: Determination of pesticides in food and environmental samples. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 143, p. 116396, 1 out. 2021.

DING, X. et al. Magnetic ionic liquid-enhanced isothermal nucleic acid amplification and its application to rapid visual DNA analysis. **Analytica Chimica Acta**, v. 1045, p. 132–140, 3 jan. 2019.

DING, X. et al. Magnetic ionic liquid-based liquid-liquid microextraction followed by ultra-performance liquid chromatography coupled with triple-quadrupole tandem mass spectrometry for simultaneous determination of neurotransmitters in human cerebrospinal fluid and plasma. **Talanta**, v. 262, p. 124690, 1 set. 2023.

DMITRIENKO, S. G. et al. Dispersive Liquid–Liquid Microextraction of Organic Compounds: An Overview of Reviews. **Journal of Analytical Chemistry**, v. 75, n. 10, p. 1237–1251, 1 out. 2020.

DO CARMO, S. N.; MERIB, J.; CARASEK, E. Bract as a novel extraction phase in thin-film SPME combined with 96-well plate system for the high-throughput determination of estrogens in human urine by liquid chromatography coupled to fluorescence detection. **Journal of Chromatography B**, v. 1118–1119, p. 17–24, 15 jun. 2019.

DROUIN, N. et al. Development of a New Extraction Device Based on Parallel-Electromembrane Extraction. **Analytical Chemistry**, v. 89, n. 12, p. 6346–6350, 20 jun. 2017.

EIBAK, L. E. E. et al. Parallel electromembrane extraction in the 96-well format. **Analytica Chimica Acta**, v. 828, p. 46–52, 30 maio 2014.

ELIK, A. et al. Vortex assisted magnetic ionic liquid based dispersive liquid–liquid microextraction approach for determination of metribuzin in some plant samples with UV–Vis spectrophotometer. **Microchemical Journal**, v. 181, p. 107809, 1 out. 2022.

ELIK, A.; ALTUNAY, N. Optimization of magnetic ionic based dispersive liquid-liquid microextraction of cadmium in water and food samples using experimental design prior to flame atomic absorption spectrophotometry. **Sustainable Chemistry and Pharmacy**, v. 27, p. 100697, 1 jun. 2022.

EMAUS, M. N. et al. Preconcentration of DNA using magnetic ionic liquids that are compatible with real-time PCR for rapid nucleic acid quantification. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 410, n. 17, p. 4135–4144, 1 jul. 2018.

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**, v. 1124, p. 184–193, 8 ago. 2020.

EMAUS, M. N.; ANDERSON, J. L. Magnetic ionic liquids as microRNA extraction solvents and additives for the exponential amplification reaction. **Analytica Chimica Acta**, v. 1181, p. 338900, 9 out. 2021.

EMAUS, M. N.; ANDERSON, J. L. Selective extraction of low-abundance BRAF V600E mutation from plasma, urine, and sputum using ion-tagged oligonucleotides and magnetic ionic liquids. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 414, n. 1, p. 277–286, 1 jan. 2022.

EVANGELISTA, S. et al. High throughput LC-MS/MS method for steroid hormone analysis in rat liver and plasma – unraveling methodological challenges. **Talanta**, v. 266, p. 124981, 1 jan. 2024.

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**, v. 209, p. 120542, 1 mar. 2020.

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**, v. 410, n. 19, p. 4679–4687, 1 jul. 2018.

FIORENTINI, E. F.; BOTELLA, M. B.; WUILLOUD, R. G. A simple preconcentration method for highly sensitive determination of Pb in bee products by magnetic ionic liquid dispersive liquid-liquid microextraction and electrothermal atomic absorption spectrometry. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 95, p. 103661, 1 jan. 2021.

FIORENTINI, E. F.; CANIZO, B. V.; WUILLOUD, R. G. Determination of As in honey samples by magnetic ionic liquid-based dispersive liquid-liquid microextraction and electrothermal atomic absorption spectrometry. **Talanta**, v. 198, p. 146–153, 1 jun. 2019.

FIORENTINI, E. F.; ESCUDERO, L. B.; WUILLOUD, 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**, v. 410, n. 19, p. 4715–4723, 1 jul. 2018.

FIORENTINI, E. F.; OVIEDO, M. N.; WUILLOUD, 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**, v. 169, p. 105879, 1 jul. 2020.

GAGO-FERRERO, P.; DÍAZ-CRUZ, M. S.; BARCELÓ, D. UV filters bioaccumulation in fish from Iberian river basins. **Science of The Total Environment**, v. 518–519, p. 518–525, 15 jun. 2015.

GAŁUSZKA, A. et al. Analytical Eco-Scale for assessing the greenness of analytical procedures. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 37, p. 61–72, 1 jul. 2012.

GAŁUSZKA, A.; MIGASZEWSKI, Z.; NAMIEŚNIK, J. The 12 principles of green analytical chemistry and the SIGNIFICANCE mnemonic of green analytical practices. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 50, p. 78–84, 1 out. 2013.

GE, D.; LEE, H. K. Ionic liquid based hollow fiber supported liquid phase microextraction of ultraviolet filters. **Journal of Chromatography A**, v. 1229, p. 1–5, 16 mar. 2012.

GEIB, T. et al. A simple micro-extraction plate assay for automated LC-MS/MS analysis of human serum 25-hydroxyvitamin D levels. **Journal of Mass Spectrometry**, v. 50, n. 1, p. 275–279, 2015.

GHASEMI, R. et al. Application of magnetic ionic liquid-based air-assisted liquid-liquid microextraction followed by back-extraction optimized with centroid composite design for the extraction of antibiotics from milk samples prior to their determination by HPLC–DAD. **Microchemical Journal**, v. 181, p. 107764, 1 out. 2022.

GHOLIZADEH, S. et al. Ultrasound-assisted solvent extraction combined with magnetic ionic liquid based-dispersive liquid-liquid microextraction for the extraction of mycotoxins from tea samples. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 114, p. 104831, 1 dez. 2022.

GJELSTAD, A. et al. Parallel artificial liquid membrane extraction: micro-scale liquid-liquid-liquid extraction in the 96-well format. **Bioanalysis**, v. 5, n. 11, p. 1377–1385, jun. 2013.

GORYNSKI, K. et al. Development of SPME method for concomitant sample preparation of rocuronium bromide and tranexamic acid in plasma. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 92, p. 183–192, 15 abr. 2014.

GORYŃSKI, K.; KIEDROWICZ, A.; BOJKO, B. Development of SPME-LC–MS method for screening of eight beta-blockers and bronchodilators in plasma and urine samples. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, Current trends in bioanalysis - In Honour of Professor Roman Kalisz. v. 127, p. 147–155, 5 ago. 2016.

GUO, Z. et al. Microwave energy-assisted extraction of bioactive polyphenols with green technology based on magnetic ionic liquid and their stability under different conditions. **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**, v. 268, n. 1, p. 012072, 1 jun. 2019.

HASSAN, A. A.; TANIMU, A.; ALHOOSHANI, K. Iron and cobalt-containing magnetic ionic liquids for dispersive micro-solid phase extraction coupled with HPLC-DAD for the preconcentration and quantification of carbamazepine drug in urine and environmental water samples. **Journal of Molecular Liquids**, v. 336, p. 116370, 15 ago. 2021.

HASSAN, A. A.; TANIMU, A.; ALHOOSHANI, K. Dispersive Micro-Solid Phase Extraction of Pharmaceutical Drugs from Wastewater and Human Urine Using (Z)-Octadec-9-en-1-aminium tetrachloroferrate (III) Ionic Liquid and Analysis by High-Performance Liquid Chromatography. **Arabian Journal for Science and Engineering**, v. 47, n. 6, p. 6915–6929, 1 jun. 2022.

HAVLIKOVA, M. et al. Critical evaluation of microextraction pretreatment techniques—Part 2: Membrane-supported and homogenous phase based techniques. **Journal of Separation Science**, v. 42, n. 1, p. 303–318, 2019.

HUELSMANN, R. D.; WILL, C.; CARASEK, E. Novel strategy for disposable pipette extraction (DPX): Low-cost Parallel-DPX for determination of phthalate migration from common plastic materials to saliva simulant with GC-MS. **Talanta**, v. 221, p. 121443, 1 jan. 2021.

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

IQBAL, M. et al. High throughput μ -SPE based elution coupled with UPLC–MS/MS for determination of eluxadoline in plasma sample: Application in pharmacokinetic characterization of PLGA nanoparticle formulations in rats. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 149, p. 172–178, 5 fev. 2018.

ISMILZADEH, A. et al. An environmentally friendly sample pre-treatment method based on magnetic ionic liquids for trace determination of nitrotoluene compounds in soil and water samples by gas chromatography–mass spectrometry using response surface methodology. **Chemical Papers**, v. 74, n. 9, p. 2929–2943, 1 set. 2020.

JEANNOT, M. A.; CANTWELL, F. F. Solvent Microextraction into a Single Drop. **Analytical Chemistry**, v. 68, n. 13, p. 2236–2240, 1 jul. 1996.

JIAN, N. et al. High-Throughput and High-Efficient Micro-solid Phase Extraction Based on Sulfonated-Polyaniline/Polyacrylonitrile Nanofiber Mats for Determination of Fluoroquinolones in Animal-Origin Foods. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 67, n. 24, p. 6892–6901, 19 jun. 2019.

JING, Y. et al. High-throughput biomonitoring of organophosphate flame-retardant metabolites in urine via 96-blade solid-phase microextraction coupled with ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Talanta**, v. 232, p. 122466, 1 set. 2021.

JOSEPH, A. et al. Paramagnetic ionic liquids for advanced applications: A review. **Journal of Molecular Liquids**, v. 218, p. 319–331, 1 jun. 2016.

KAILASA, S. K. et al. Applications of single-drop microextraction in analytical chemistry: A review. **Trends in Environmental Analytical Chemistry**, v. 29, p. e00113, 1 mar. 2021.

KANU, A. B. Recent developments in sample preparation techniques combined with high-performance liquid chromatography: A critical review. **Journal of Chromatography A**, v. 1654, p. 462444, 27 set. 2021.

KAYE, B. et al. Rapid, Solid Phase Extraction Technique for the High-Throughput Assay of Darifenacin in Human Plasma. **Analytical Chemistry**, v. 68, n. 9, p. 1658–1660, 1 maio 1996.

KHALED, A.; BELINATO, J. R.; PAWLISZYN, J. Rapid and high-throughput screening of multi-residue pharmaceutical drugs in bovine tissue using solid phase microextraction and direct analysis in real time-tandem mass spectrometry (SPME-DART-MS/MS). **Talanta**, v. 217, p. 121095, 1 set. 2020.

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

KOCÚROVÁ, L.; BALOGH, I. S.; ANDRUCH, V. Solvent microextraction: A review of recent efforts at automation. **Microchemical Journal**, v. 110, p. 599–607, 1 set. 2013.

KOEL, M. Do we need Green Analytical Chemistry? **Green Chemistry**, v. 18, n. 4, p. 923–931, 12 fev. 2016.

KOKOSA, J. M. Advances in solvent-microextraction techniques. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, Highlights in Sample Preparation (for Food and Environmental Analysis). v. 43, p. 2–13, 1 fev. 2013.

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

KOŁODZIEJ, D.; SOBCZAK, Ł.; GORYŃSKI, K. Innovative, simple, and green: A sample preparation method based on 3D printed polymers. **Talanta**, v. 257, p. 124380, 15 maio 2023.

KONG, J. et al. Sol–gel based metal-organic framework zeolite imidazolate framework-8 fibers for solid-phase microextraction of nitro polycyclic aromatic hydrocarbons and polycyclic aromatic hydrocarbons in water samples. **Journal of Chromatography A**, v. 1603, p. 92–101, 11 out. 2019.

LANGILLE, E.; HANRAHAN, K. A.; BOTTARO, C. S. A thin-film molecularly imprinted polymer for the measurement of tyrosine kinase inhibitors in human plasma. **Talanta Open**, v. 8, p. 100240, 1 dez. 2023.

LEONARDI, F. et al. A step towards accreditation: A robustness test of etching process. **Applied Radiation and Isotopes**, v. 102, p. 93–97, 1 ago. 2015.

LIMA, C. M. G. et al. A state-of-the-art review of the chemical composition of sugarcane spirits and current advances in quality control. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 106, p. 104338, 1 mar. 2022.

LIU, SHAORONG.; DASGUPTA, P. K. Liquid Droplet. A Renewable Gas Sampling Interface. **Analytical Chemistry**, v. 67, n. 13, p. 2042–2049, 1 jul. 1995.

LLAVER, M. et al. Analytical developments and applications of ionic liquids for environmental studies. **Trends in Environmental Analytical Chemistry**, v. 31, p. e00131, 1 set. 2021.

LOOBY, N. et al. Therapeutic drug monitoring of tranexamic acid in plasma and urine of renally impaired patients using solid phase microextraction. **Talanta**, v. 225, p. 121945, 1 abr. 2021.

LOPES, D. et al. Determination of emerging contaminants in aqueous matrices with hollow fiber-supported dispersive liquid-liquid microextraction (HF-DLLME) and separation/detection by liquid chromatography – Diode array detection. **Microchemical Journal**, v. 130, p. 371–376, 1 jan. 2017.

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 detection. **Analytica Chimica Acta**, v. 1040, p. 33–40, 21 dez. 2018.

LOPES, D. et al. Histamine functionalized magnetic nanoparticles (HIS-MNP) as a sorbent for thin film microextraction of endocrine disrupting compounds in aqueous samples and determination by high performance liquid chromatography-fluorescence detection. **Journal of Chromatography A**, v. 1602, p. 41–47, 27 set. 2019.

LOPES, D. et al. Determination of hormones in urine by hollow fiber microporous membrane liquid–liquid extraction associated with 96-well plate system and HPLC-FLD detection. **Journal of Chromatography B**, v. 1207, p. 123406, 1 set. 2022.

LÓPEZ-LORENTE, Á. I. et al. The ten principles of green sample preparation. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 148, p. 116530, 1 mar. 2022.

LUO, G.; LI, Y.; BAO, J. J. Development and application of a high-throughput sample cleanup process based on 96-well plate for simultaneous determination of 16 steroids in biological matrices using liquid chromatography–triple quadrupole mass spectrometry. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 408, n. 4, p. 1137–1149, 1 fev. 2016.

MACHADO, A. M. DE R. et al. Contamination of cachaça by PAHs from storage containers. **Food Chemistry**, v. 146, p. 65–70, 1 mar. 2014.

MACIEL, E. V. S. et al. New materials in sample preparation: Recent advances and future trends. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 119, p. 115633, 1 out. 2019.

MAFRA, G. et al. Low-cost approach to increase the analysis throughput of bar adsorptive microextraction (BA μ E) combined with environmentally-friendly renewable sorbent phase of recycled diatomaceous earth. **Talanta**, v. 178, p. 886–893, 1 fev. 2018.

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

MAFRA, G. et al. 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, 21 jun. 2020.

MAFRA, G. et al. 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, n. 9, p. 1961–1968, 2021.

MARCINKOWSKA, R. et al. Application of ionic liquids in microextraction techniques: Current trends and future perspectives. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 119, p. 115614, 1 out. 2019.

MARENGO, A. et al. Development of an innovative and sustainable one-step method for rapid plant DNA isolation for targeted PCR using magnetic ionic liquids. **Plant Methods**, v. 15, n. 1, p. 23, 9 mar. 2019.

MARTINS, M. L. et al. Microextração Líquido-Líquido Dispersiva (DLLME): Fundamentos e aplicações. **Scientia Chromatographica**, v. 4, n. 1, p. 29–45, 2012.

MAYA, F. et al. Automated in-syringe dispersive liquid-liquid microextraction. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 59, p. 1–8, 1 jul. 2014.

MENEZES, H. C. et al. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in artisanal cachaça by DI-CF-SPME–GC/MS. **Microchemical Journal**, v. 118, p. 272–277, 1 jan. 2015.

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**, v. 410, n. 19, p. 4689–4699, 1 jul. 2018.

MIAO, C.-X. et al. Synthesis of bimagnetic ionic liquid and application for selective aerobic oxidation of aromatic alcohols under mild conditions. **Chemical Communications**, v. 47, n. 9, p. 2697–2699, 14 fev. 2011.

MIRNAGHI, F. S. et al. Optimization of the Coating Procedure for a High-Throughput 96-Blade Solid Phase Microextraction System Coupled with LC–MS/MS for Analysis of Complex Samples. **Analytical Chemistry**, v. 83, n. 15, p. 6018–6025, 1 ago. 2011.

MIRNAGHI, F. S.; MONTON, M. R. N.; PAWLISZYN, J. Thin-film octadecyl-silica glass coating for automated 96-blade solid-phase microextraction coupled with liquid chromatography–tandem mass spectrometry for analysis of benzodiazepines. **Journal of Chromatography A**, Selected papers from 37th International Symposium on High-Performance Liquid-Phase Separations and Related Techniques. v. 1246, p. 2–8, 13 jul. 2012.

MOHEBBI, A. et al. Combination of mixed mode dispersive solid phase extraction with magnetic ionic liquids based dispersive liquid–liquid microextraction for the extraction of anticoagulant drugs from urine samples. **Microchemical Journal**, v. 183, p. 108065, 1 dez. 2022.

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**, v. 1626, p. 461377, 30 ago. 2020.

MORÉS, L.; DIAS, A. N.; CARASEK, E. Development of a high-throughput method based on thin-film microextraction using a 96-well plate system with a cork coating for the extraction of emerging contaminants in river water samples. **Journal of Separation Science**, v. 41, n. 3, p. 697–703, 2018.

MOUSAVI, K. Z.; YAMINI, Y.; SEIDI, S. Dispersive liquid–liquid microextraction using magnetic room temperature ionic liquid for extraction of ultra-trace amounts of parabens. **New Journal of Chemistry**, v. 42, n. 12, p. 9735–9743, 11 jun. 2018.

MOUSAVI, L.; TAMIJI, Z.; KHOSHAYAND, M. R. Applications and opportunities of experimental design for the dispersive liquid–liquid microextraction method – A review. **Talanta**, v. 190, p. 335–356, 1 dez. 2018.

MUMCU, T.; BOZKURT, S. Aqueous two-phase extraction technique based on magnetic ionic liquid-nonionic surfactant for phenolic acids in grape, apple, pear, and banana. **Turkish Journal of Chemistry**, v. 43, n. 6, p. 1672–1685, 1 jan. 2019.

NIE, L. et al. Extraction in cholinium-based magnetic ionic liquid aqueous two-phase system for the determination of berberine hydrochloride in *Rhizoma coptidis*. **RSC Advances**, v. 8, n. 44, p. 25201–25209, 9 jul. 2018.

OLOMUKORO, A. A.; DEROSA, C.; GIONFRIDDO, E. Investigation of the adsorption/desorption mechanism of perfluoroalkyl substances on HLB-WAX extraction phases for microextraction. **Analytica Chimica Acta**, v. 1260, p. 341206, 15 jun. 2023.

OVIEDO, M. N. et al. Two-step separation and determination of inorganic As species in water, soil and sediment samples by implementing two ionic liquids in dispersive liquid–liquid microextraction with electrothermal atomic absorption spectrometry detection. **Microchemical Journal**, v. 159, p. 105386, 1 dez. 2020.

OVIEDO, M. N. et al. Ultra-sensitive Sb speciation analysis in water samples by magnetic ionic liquid dispersive liquid–liquid microextraction and multivariate optimization. **Analytical Methods**, v. 13, n. 8, p. 1033–1042, 4 mar. 2021.

PATIÑO, G. R. et al. Development of a method for the determination of 8-iso-PGF₂α in sheep and goat plasma using solid-phase microextraction and ultra-performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, v. 32, n. 19, p. 1675–1682, 2018.

PENA-PEREIRA, F. et al. Miniaturized analytical methods for determination of environmental contaminants of emerging concern – A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 1158, p. 238108, 8 maio 2021.

PENG, L.-Q.; CAO, J. Modern microextraction techniques for natural products. **ELECTROPHORESIS**, v. 42, n. 3, p. 219–232, 2021.

PENG, P. L.; LIM, L. H. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) Sample Preparation and Analysis in Beverages: A Review. **Food Analytical Methods**, v. 15, n. 4, p. 1042–1061, 1 abr. 2022.

PIERRI, M. E. et al. Multiclass determination of endocrine disruptors in urine by hollow fiber microporous membrane and liquid chromatography. **Analytical Biochemistry**, v. 652, p. 114725, 1 set. 2022.

PILAŘOVÁ, V. et al. One-step extraction of polar drugs from plasma by parallel artificial liquid membrane extraction. **Journal of Chromatography B**, Extraction and Sample Preparation Techniques in Bioanalysis. v. 1043, p. 25–32, 1 fev. 2017.

PISKÁČKOVÁ, H. B. et al. Electromembrane extraction of anthracyclines from plasma: Comparison with conventional extraction techniques. **Talanta**, v. 223, p. 121748, 1 fev. 2021.

PŁOTKA-WASYLKA, J. et al. Modern trends in solid phase extraction: New sorbent media. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 77, p. 23–43, 1 mar. 2016.

QIAN, M. et al. A high-throughput screening method for determination of multi-antibiotics in animal feed. **Journal of Separation Science**, v. 42, n. 18, p. 2968–2976, 2019.

QIAO, L. et al. A magnetic ionic liquid based vortex-assisted dispersive liquid-liquid microextraction coupled with back-extraction for the enrichment of fluoroquinolone antibiotics. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 219, p. 114903, 20 set. 2022.

QIAO, L. et al. Multi-magnetic center ionic liquids for dispersive liquid-liquid microextraction coupled with in-situ decomposition based back-extraction for the enrichment of parabens in beverage samples. **Journal of Chromatography A**, v. 1689, p. 463771, 25 jan. 2023.

RAHMANI, F. et al. A 96-Monolithic inorganic hollow fiber array as a new geometry for high throughput solid-phase microextraction of doxorubicin in water and human urine

samples coupled with liquid chromatography–tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1627, p. 461413, 13 set. 2020.

RAMBLA-ALEGRE, M.; ESTEVE-ROMERO, J.; CARDA-BROCH, S. Is it really necessary to validate an analytical method or not? That is the question. **Journal of Chromatography A**, Selected Papers from the 36th International Symposium on High-Performance Liquid Phase Separations and Related Techniques. v. 1232, p. 101–109, 6 abr. 2012.

REN, T. et al. Micro-solid phase extraction and LC–MS3 for the determination of triptorelin in rat plasma and application to a pharmacokinetic study. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 166, p. 13–19, 20 mar. 2019.

ROY, K. S. et al. Optimizing a High-Throughput Solid-Phase Microextraction System to Determine the Plasma Protein Binding of Drugs in Human Plasma. **Analytical Chemistry**, v. 93, n. 32, p. 11061–11065, 17 ago. 2021.

RUTKOWSKA, M. et al. Liquid–phase microextraction: A review of reviews. **Microchemical Journal**, v. 149, p. 103989, 1 set. 2019.

RYKOWSKA, I.; ZIEMBLIŃSKA, J.; NOWAK, I. Modern approaches in dispersive liquid-liquid microextraction (DLLME) based on ionic liquids: A review. **Journal of Molecular Liquids**, v. 259, p. 319–339, 1 jun. 2018.

SAJID, M. Magnetic ionic liquids in analytical sample preparation: A literature review. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 113, p. 210–223, 1 abr. 2019.

SARAFRAZ-YAZDI, A.; AMIRI, A. Liquid-phase microextraction. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 29, n. 1, p. 1–14, 1 jan. 2010.

SCUR, R.; DAGNONI HUELSMANN, R.; CARASEK, E. Polyamide-coated paper-based sorptive phase applied in high-throughput thin film microextraction designed by 3D printing. **Microchemical Journal**, v. 189, p. 108515, 1 jun. 2023.

SHI, M. et al. Overview of sixteen green analytical chemistry metrics for evaluation of the greenness of analytical methods. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 166, p. 117211, 1 set. 2023.

SINGH, L.; AGARWAL, T. Polycyclic aromatic hydrocarbons in diet: Concern for public health. **Trends in Food Science & Technology**, v. 79, p. 160–170, 1 set. 2018.

SKOTTVOLL, F. S. et al. Electromembrane Extraction and Mass Spectrometry for Liver Organoid Drug Metabolism Studies. **Analytical Chemistry**, v. 93, n. 7, p. 3576–3585, 23 fev. 2021.

SPIETELUN, A. et al. Green aspects, developments and perspectives of liquid phase microextraction techniques. **Talanta**, v. 119, p. 34–45, 15 fev. 2014.

TANG, S. et al. Single-drop microextraction. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 108, p. 306–313, 1 nov. 2018.

TASCON, M. et al. High-Throughput Screening and Quantitation of Target Compounds in Biofluids by Coated Blade Spray-Mass Spectrometry | *Analytical Chemistry*. **Analytical Chemistry**, v. 89, p. 8421–8428, 2017.

TINTROP, L. K. et al. Improving greenness and sustainability of standard analytical methods by microextraction techniques: A critical review. **Analytica Chimica Acta**, v. 1271, p. 341468, 29 ago. 2023.

TOGUNDE, O. P. et al. Determination of selected pharmaceutical residues in wastewater using an automated open bed solid phase microextraction system. **Journal of Chromatography A**, v. 1262, p. 34–42, 2 nov. 2012.

TRUJILLO-RODRÍGUEZ, M. J. et al. Magnetic ionic liquids as non-conventional extraction solvents for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons. **Analytica Chimica Acta**, v. 934, p. 106–113, 31 ago. 2016.

TRUJILLO-RODRÍGUEZ, M. J.; ANDERSON, J. L. In situ formation of hydrophobic magnetic ionic liquids for dispersive liquid-liquid microextraction. **Journal of Chromatography A**, v. 1588, p. 8–16, 15 mar. 2019a.

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**, v. 196, p. 420–428, 1 maio 2019b.

TRUJILLO-RODRÍGUEZ, M. J.; PINO, V.; ANDERSON, J. L. Magnetic ionic liquids as extraction solvents in vacuum headspace single-drop microextraction. **Talanta**, v. 172, p. 86–94, 1 set. 2017.

TRUJILLO-RODRÍGUEZ, M. J.; PINO, V.; MIRÓ, M. High-throughput microscale extraction using ionic liquids and derivatives: A review. **Journal of Separation Science**, v. 43, n. 9–10, p. 1890–1907, 2020.

TURAZZI, F. C. et al. Polyaniline-silica doped with oxalic acid as a novel extractor phase in thin film solid-phase microextraction for determination of hormones in urine. **Journal of Separation Science**, v. n/a, n. n/a, p. 2300280, [s.d.].

VALDERRAMA, L. et al. Emerging micropollutants determination by NIR spectroscopy using pseudo-univariate calibration and TF-SPME coupled with 96-well plate system. **Microchemical Journal**, v. 155, p. 104789, 1 jun. 2020.

VÅRDAL, L. et al. Parallel artificial liquid membrane extraction of new psychoactive substances in plasma and whole blood. **Journal of Chromatography B**, v. 1048, p. 77–84, 24 mar. 2017.

VARONA, M. et al. Metal-containing and magnetic ionic liquids in analytical extractions and gas separations. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 140, p. 116275, 1 jul. 2021.

VATINNO, R. et al. Automated high-throughput method using solid-phase microextraction–liquid chromatography–tandem mass spectrometry for the determination of ochratoxin A in human urine. **Journal of Chromatography A**, 10th

International Symposium on Hyphenated Techniques in Chromatography and Hyphenated Chromatographic Analysers. v. 1201, n. 2, p. 215–221, 8 ago. 2008.

VIDAL, L. et al. Ionic liquid-based single-drop microextraction followed by liquid chromatography-ultraviolet spectrophotometry detection to determine typical UV filters in surface water samples. **Talanta**, v. 81, n. 1, p. 549–555, 15 abr. 2010.

VUCKOVIC, D. et al. Automation of Solid-Phase Microextraction in High-Throughput Format and Applications to Drug Analysis. **Analytical Chemistry**, v. 80, n. 18, p. 6870–6880, 15 set. 2008.

VUCKOVIC, D.; PAWLISZYN, J. Automated study of ligand–receptor binding using solid-phase microextraction. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, SELECTED PAPERS FROM THE 19TH INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON PHARMACEUTICAL AND BIOMEDICAL ANALYSIS (PBA 2008). v. 50, n. 4, p. 550–555, 1 nov. 2009.

WANG, X. et al. Selenium Speciation in Rice Samples by Magnetic Ionic Liquid-Based Up-and-Down-Shaker-Assisted Dispersive Liquid-Liquid Microextraction Coupled to Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry. **Food Analytical Methods**, v. 10, n. 6, p. 1653–1660, 1 jun. 2017.

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**, v. 1373, p. 9–16, 19 dez. 2014.

WANG, Y. et al. Matrix solid-phase dispersion coupled with magnetic ionic liquid dispersive liquid–liquid microextraction for the determination of triazine herbicides in oilseeds. **Analytica Chimica Acta**, v. 888, p. 67–74, 12 ago. 2015.

WILL, C. et al. Improvement of dispersive liquid-liquid microextraction robustness by performing consecutive extractions: Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in Brazilian sugar cane spirits by GC-MS. **SEPARATION SCIENCE PLUS**, v. 1, n. 8, p. 564–573, 2018.

WILL, C. 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**, v. 43, n. 13, p. 2657–2665, 2020.

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**, v. 223, p. 121759, 1 fev. 2021.

WOJNOWSKI, W. et al. AGREEprep – Analytical greenness metric for sample preparation. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 149, p. 116553, 1 abr. 2022.

WU, K.; SHEN, X. Designing a new type of magnetic ionic liquid: a strategy to improve the magnetic susceptibility. **New Journal of Chemistry**, v. 43, n. 40, p. 15857–15860, 14 out. 2019.

XIE, W. et al. Automation of in-tip solid-phase microextraction in 96-well format for the determination of a model drug compound in human plasma by liquid chromatography with tandem mass spectrometric detection. **Journal of Chromatography B**, v. 877, n. 4, p. 415–420, 1 fev. 2009.

XIE, W. et al. Quantitative liquid chromatographic and tandem mass spectrometric determination of vitamin D3 in human serum with derivatization: A comparison of in-tube LLE, 96-well plate LLE and in-tip SPME. **Journal of Chromatography B**, ENHANCEMENT OF ANALYSIS BY ANALYTICAL DERIVATIZATION. v. 879, n. 17, p. 1457–1466, 15 maio 2011.

XU, X. et al. Tailored novel multifunctional benzyl-functionalized magnetic ionic liquid for rapid and efficient monitoring of trace fluoroquinolones in food samples. **Food Chemistry**, v. 404, p. 134654, 15 mar. 2023.

YAMINI, Y.; REZAZADEH, M.; SEIDI, S. Liquid-phase microextraction – The different principles and configurations. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 112, p. 264–272, 1 mar. 2019.

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**, v. 256, p. 212–218, 1 ago. 2018.

YAO, T.; DU, K. Simultaneous determination of sulfonamides in milk: In-situ magnetic ionic liquid dispersive liquid-liquid microextraction coupled with HPLC. **Food Chemistry**, v. 331, p. 127342, 30 nov. 2020.

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**, v. 1481, p. 12–22, 20 jan. 2017.

YAVIR, K. et al. Ionic liquids in the microextraction techniques: The influence of ILs structure and properties. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 130, p. 115994, 1 set. 2020.

YU, H.; MERIB, J.; ANDERSON, J. L. Faster dispersive liquid-liquid microextraction methods using magnetic ionic liquids as solvents. **Journal of Chromatography A**, v. 1463, p. 11–19, 9 set. 2016.

ZHANG, K. et al. Air-assisted liquid-liquid microextraction based on solidification of floating deep eutectic solvent for the analysis of ultraviolet filters in water samples by high performance liquid chromatography with the aid of response surface methodology. **Journal of Chromatography A**, v. 1618, p. 460876, 10 maio 2020a.

ZHANG, X. et al. Quantitative in Vivo Microsampling for Pharmacokinetic Studies Based on an Integrated Solid-Phase Microextraction System. **Analytical Chemistry**, v. 79, n. 12, p. 4507–4513, 1 jun. 2007.

ZHANG, X. et al. High-throughput method based on a novel thin-film microextraction coating for determining macrolides and lincosamides in honey. **Food Chemistry**, v. 346, p. 128920, 1 jun. 2021.

ZHANG, Y.; LEE, H. K. Determination of ultraviolet filters in environmental water samples by temperature-controlled ionic liquid dispersive liquid-phase microextraction. **Journal of Chromatography A**, v. 1271, n. 1, p. 56–61, 4 jan. 2013.

ZHANG, Z. et al. High-throughput determination of fungicides in grapes using thin-film microextraction coupled with liquid chromatography–tandem mass spectrometry. **Journal of Separation Science**, v. 43, n. 8, p. 1558–1565, 2020b.

ZHOU, W.; WIECZOREK, M. N.; PAWLISZYN, J. High throughput and automated solid-phase microextraction and determination by liquid chromatography-mass spectrometry for the analysis of mycotoxins in beer. **Food Chemistry**, v. 426, p. 136557, 15 nov. 2023.

ZHU, Z. et al. The contamination, formation, determination and control of polycyclic aromatic hydrocarbons in meat products. **Food Control**, v. 141, p. 109194, 1 nov. 2022.

APÊNDICE A

Tabela A1. Anova fator único com 95% de confiança realizada para as áreas obtidas com $[\text{Co}(\text{C}_4\text{IM})_4]\text{Cl}_2$ e $[\text{Ni}(\text{BeIM})_4]\text{Cl}_2$ para triclocarban

RESUMO						
<i>Grupo</i>	<i>Contagem</i>	<i>Soma</i>	<i>Média</i>	<i>Variância</i>		
$[\text{Co}(\text{C}_4\text{IM})_4]\text{Cl}_2$	3	1080218	360072,7	6,8E+08		
$[\text{Ni}(\text{BeIM})_4]\text{Cl}_2$	3	1357849	452616,3	6,95E+09		
ANOVA						
<i>Fonte da variação</i>	<i>SQ</i>	<i>gl</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>valor-P</i>	<i>F crítico</i>
Entre grupos	1,28E+10	1	1,28E+10	3,37	0,140372	7,71
Dentro dos grupos	1,53E+10	4	3,81E+09			
Total	2,81E+10	5				

Tabela A2. Anova fator único com 95% de confiança realizada para as áreas obtidas com $[\text{Co}(\text{C}_4\text{IM})_4]\text{Cl}_2$ e $[\text{Ni}(\text{BeIM})_4]\text{Cl}_2$ para pendimentalina.

RESUMO						
<i>Grupo</i>	<i>Contagem</i>	<i>Soma</i>	<i>Média</i>	<i>Variância</i>		
$[\text{Co}(\text{C}_4\text{IM})_4]\text{Cl}_2$	3	398084	132694,6667	90553716,3		
$[\text{Ni}(\text{BeIM})_4]\text{Cl}_2$	3	472795	157598,3333	545607232		
ANOVA						
<i>Fonte da variação</i>	<i>SQ</i>	<i>gl</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>valor-P</i>	<i>F crítico</i>
Entre grupos	930288920	1	930288920,2	2,92	0,1624	7,71
Dentro dos grupos	1272321897	4	318080474,3			
Total	2202610818	5				

Tabela A3. Anova fator único com 95% de confiança realizada para as áreas obtidas com $[\text{Co}(\text{C}_4\text{IM})_4]\text{Cl}_2$ e $[\text{Ni}(\text{BeIM})_4]\text{Cl}_2$ para 4-MBC

RESUMO						
<i>Grupo</i>	<i>Contagem</i>	<i>Soma</i>	<i>Média</i>	<i>Variância</i>		
$[\text{Co}(\text{C}_4\text{IM})_4]\text{Cl}_2$	3	610507	203502,3333	194716824		
$[\text{Ni}(\text{BeIM})_4]\text{Cl}_2$	3	577041	192347	872410189		
ANOVA						
<i>Fonte da variação</i>	<i>SQ</i>	<i>gl</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>valor-P</i>	<i>F crítico</i>
Entre grupos	186662193	1	186662192,7	0,35	0,586	7,71
Dentro dos grupos	2134254027	4	533563506,7			
Total	2320916219	5				

Tabela A4. Anova fator único com 95% de confiança realizada para as áreas obtidas com $[\text{Co}(\text{C}_4\text{IM})_4]\text{Cl}_2$ e $[\text{Ni}(\text{BeIM})_4]\text{Cl}_2$ para EHMC

RESUMO						
<i>Grupo</i>	<i>Contagem</i>	<i>Soma</i>	<i>Média</i>	<i>Variância</i>		
$[\text{Co}(\text{C}_4\text{IM})_4]\text{Cl}_2$	3	59589	198632,333	47122410		
$[\text{Ni}(\text{BeIM})_4]\text{Cl}_2$	3	62001	206673	77026809		
		9		7		
ANOVA						
<i>Fonte da variação</i>	<i>SQ</i>	<i>gl</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>valor-P</i>	<i>F crítico</i>
Entre grupos	96978480,7	1	96978480,6	0,24	0,651	7,71
Dentro dos grupos	163478101	4	408695253,7			
	5					
Total	173175949	5				

Tabela A5. Tabela ANOVA obtida para o planejamento fatorial completo.

Fator	SS	df	MS	F	p
Curvatura	7,72E+09	1	7,72E+09	60,832	0,004
(1)Massa de $[\text{Co}(\text{C}_4\text{IM})_4]\text{Cl}_2$	2,47E+10	1	2,47E+10	194,937	0,001
(2)Tempo	1,83E+09	1	1,83E+09	14,389	0,032
(3)%NaCl	1,32E+09	1	1,32E+09	10,438	0,048
(4)pH	9,94E+07	1	9,94E+07	0,783	0,441
1 e 2	9,91E+09	1	9,91E+09	78,091	0,003
1 e 3	9,28E+09	1	9,28E+09	73,098	0,003
1 e 4	4,10E+07	1	4,10E+07	0,323	0,610
2 e 3	4,26E+09	1	4,26E+09	33,556	0,010
2 e 4	4,73E+08	1	4,73E+08	3,731	0,149
3 e 4	5,92E+08	1	5,92E+08	4,663	0,120
Falta de ajuste	1,09E+09	3	3,64E+08	2,866	0,205
Erro puro	3,81E+08	3	1,27E+08		
Total SS	5,40E+10	17			

Tabela A6. Tabela ANOVA obtida com o modelo Box-Behnken

Fator	SS	df	MS	F	p
(1)Massa $[\text{Co}(\text{C}_4\text{IM})_4]\text{Cl}_2$ (L)	1,54E+09	1	1,54E+09	4,15	0,179
Massa $[\text{Co}(\text{C}_4\text{IM})_4]\text{Cl}_2$ (Q)	7,38E+09	1	7,38E+09	19,82	0,047
(2)Tempo (min)(L)	8,24E+09	1	8,24E+09	22,14	0,042
Tempo (min)(Q)	4,72E+10	1	4,72E+10	126,83	0,008
(3)%NaCl (m/v)(L)	8,43E+08	1	8,43E+08	2,26	0,271
%NaCl (m/v)(Q)	5,12E+09	1	5,12E+09	13,77	0,066
1L by 2L	1,37E+10	1	1,37E+10	36,86	0,026
1L by 2Q	9,03E+08	1	9,03E+08	2,43	0,260
1Q by 2L	2,18E+09	1	2,18E+09	5,87	0,136
1L by 3L	8,19E+09	1	8,19E+09	22,00	0,043
1Q by 3L	1,39E+07	1	1,39E+07	0,04	0,865
2L by 3L	3,13E+09	1	3,13E+09	8,42	0,101
Erro Puro	7,44E+08	2	3,72E+08		
Total SS	9,76E+10	14			

Tabela A7. Anova fator único com 95% de confiança realizada para as áreas obtidas com diferentes solventes dispersores para BZF.

RESUMO				
<i>Grupo</i>	<i>Contagem</i>	<i>Soma</i>	<i>Média</i>	<i>Variância</i>
s/ solvente	3	1036268	345422,7	444746766,3
ACN	3	888672	296224,0	702857649
MeOH	3	851245	283748,3	803884426,3
Acetona	3	908942	302980,7	588707656,3

ANOVA						
<i>Fonte da variação</i>	<i>SQ</i>	<i>gl</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>valor-P</i>	<i>F crítico</i>
Entre grupos	6447549755	3	214918325	3,38	0,075	4,07
Dentro dos grupos	5080392996	8	635049125			
Total	11527942751	11				

Tabela A8. Anova fator único com 95% de confiança realizada para as áreas obtidas com diferentes solventes dispersores para MTC.

RESUMO				
<i>Grupo</i>	<i>Contagem</i>	<i>Soma</i>	<i>Média</i>	<i>Variância</i>
s/ solvente	4	925263	231315,75	875176932,3
ACN	4	837309	209327,25	402952006,3
MeOH	3	587786	195928,667	676258886,3
Acetona	4	703577	175894,25	847219757,6

ANOVA						
<i>Fonte da variação</i>	<i>SQ</i>	<i>gl</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>valor-P</i>	<i>F crítico</i>
Entre grupos	6450838878	3	2150279626	3,06	0,073	3,59
Dentro dos grupos	7728563861	11	702596715			
Total	14179402739	14				

Tabela A9. Anova fator único com 95% de confiança realizada para as áreas obtidas com diferentes solventes dispersores para TCC.

RESUMO						
<i>Grupo</i>	<i>Contagem</i>	<i>Soma</i>	<i>Média</i>	<i>Variância</i>		
s/ solvente	4	1491699	372924,75	4009482067		
ACN	3	1183103	394367,667	2598512824		
MeOH	3	1045784	348594,667	683572521		
Acetona	3	1096775	365591,667	6809137569		
ANOVA						
<i>Fonte da variação</i>	<i>SQ</i>	<i>gl</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>valor-P</i>	<i>F crítico</i>
Entre grupos	3244263256	3	1081421085	0,30	0,823	3,86
Dentro dos grupos	32210892031	9	3578988003			
Total	35455155286	12				

Tabela A10. Anova fator único com 95% de confiança realizada para as áreas obtidas com diferentes solventes dispersores para PDM.

RESUMO						
<i>Grupo</i>	<i>Contagem</i>	<i>Soma</i>	<i>Média</i>	<i>Variância</i>		
s/ solvente	4	708190	177047,5	596744475		
ACN	4	788592	197148	332925495		
MeOH	3	543097	181032,333	493302786		
Acetona	3	670502	223500,667	1018056120		
ANOVA						
<i>Fonte da variação</i>	<i>SQ</i>	<i>gl</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>valor-P</i>	<i>F crítico</i>
Entre grupos	4302282553	3	1434094184	2,47	0,122	3,71
Dentro dos grupos	5811727724	10	581172772			
Total	10114010277	13				

Tabela A11. Anova fator único com 95% de confiança realizada para as áreas obtidas com diferentes solventes dispersores para 4-MBC.

RESUMO						
<i>Grupo</i>	<i>Contagem</i>	<i>Soma</i>	<i>Média</i>	<i>Variância</i>		
s/ solvente	4	949489	237372,25	826809665		
ACN	4	991737	247934,25	815907421		
MeOH	3	720139	240046,3333	512336176		
Acetona	3	816473	272157,6667	1299848505		
ANOVA						
<i>Fonte da variação</i>	<i>SQ</i>	<i>gl</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>valor-P</i>	<i>F crítico</i>
Entre grupos	2389940143	3	796646714,4	0,93	0,461	3,71
Dentro dos grupos	8552520621	10	855252062,1			
Total	10942460764	13				

Tabela A12. Anova fator único com 95% de confiança realizada para as áreas obtidas com diferentes solventes dispersores para EHMC.

RESUMO						
<i>Grupo</i>	<i>Contagem</i>	<i>Soma</i>	<i>Média</i>	<i>Variância</i>		
s/ solvente	4	709665	177416,25	171288830		
ACN	4	801525	200381,25	506697624		
MeOH	3	586320	195440	554501484		
Acetona	3	678906	226302	1159667569		
ANOVA						
<i>Fonte da variação</i>	<i>SQ</i>	<i>gl</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>valor-P</i>	<i>F crítico</i>
Entre grupos	4138721942	3	1379573981	2,53	0,117	3,71
Dentro dos grupos	5462297470	10	546229747			
Total	9601019411	13				

Tabela A13. Descrição dos itens utilizados para cálculo do valor de AGREEprep para os métodos utilizados na Tabela comparativa 14. O valor de energia consumido pelos métodos não foi estimado.

Ref.	Local de preparo da amostra	Quantidade de materiais perigosos	Sustentabilidade, uso de fontes renováveis e reutilizáveis	Itens AGREEPrep				Equipamento utilizado pós-preparo	Segurança do operador	Pontuação
				Resíduo gerado	Tamanho da amostra	Frequência analítica (amostras/hora)	Integração e automação			
MAFRA et al., 2019.	Ex-situ	0,005 g de MIL e 0,02 mL de ACN Total = 0,025 mL	<25% dos materiais vêm de fontes renováveis ou pode ser reutilizado	0,005 g MIL, 0,02 mL ACN e 1,5 mL de amostra Total = 1,525 mL	1,5 mL	63 (0,94 min por amostra)	Etapas: (1) Adição da amostra e MILs nos ímãs, (2) Agitação, (3) Coleta do MIL e diluição. Procedimento semi-automática	LC	2 materiais perigosos (MIL e ACN)	0,62
ZHANG e LEE, 2019	Ex-situ	0,02 mL de IL	<25% dos materiais vêm de fontes renováveis ou pode ser reutilizado	0,02 mL de IL e 10 mL de amostra Total = 10,02 mL	10 mL	3 (20 min por amostra)	Etapas: (1) Adição de amostra e IL, (2) aquecimento para dissolução, (3) centrifugação e resfriamento e (4) coleta do IL. Procedimento manual	LC	1 material perigoso (IL)	0,5

Tabela A13. Descrição dos itens utilizados para cálculo do valor de AGREEprep para os métodos utilizados na Tabela comparativa
14. O valor de energia consumido pelos métodos não foi estimado. (continuação)

Ref.	Local de preparo da amostra	Quantidade de materiais perigosos	Sustentabilidade, uso de fontes renováveis e reutilizáveis	Itens AGREEPrep				Equipamento utilizado pós-preparo	Segurança do operador	Pontuação
				Resíduo gerado	Tamanho da amostra	Frequência analítica (amostras/hora)	Integração e automação			
ZHANG et al., 2020a	<i>Ex-situ</i>	0,1 mL de MeOH	<25% dos materiais vêm de fontes renováveis ou pode ser reutilizado	0,1 mL de MeOH, 0,065 mL de DES e 5 mL de amostra	5 mL	20 (3 min por amostra)	Etapas: (1) Adição de amostra e DES, (2) ciclos de aspiração para pipeta, (3) Solução resfriada e (4) coleta da gota de DES e diluição. Procedimento manual	LC	1 material perigoso (MeOH)	0,53
CHISVERT et al., 2017.	<i>Ex-situ</i>	0,025 mL de MIL	<25% dos materiais vêm de fontes renováveis ou pode ser reutilizado	25 mL de amostra e 0,025 mL de MIL Total = 25,025	25 mL	6 (10 min por amostra)	Etapas: (1) Adição de MIL e amostra, (2) agitação (3) separação magnética e coleta do MIL para dessorção térmica dos analitos. Procedimento manual	GC-MS	1 material perigoso (MIL)	0,48

Tabela A13. Descrição dos itens utilizados para cálculo do valor de AGREEprep para os métodos utilizados na Tabela comparativa 14. O valor de energia consumido pelos métodos não foi estimado. (Continuação)

Ref.	Local de preparo da amostra	Quantidade de materiais perigosos	Sustentabilidade, uso de fontes renováveis e reutilizáveis	Itens AGREEprep					Pontuação	
				Resíduo gerado	Tamanho da amostra	Frequência analítica (amostras/hora)	Integração e automação	Equipamento utilizado pós-preparo		Segurança do operador
LOPES et al., 2017.	<i>Ex-situ</i>	0,05 mL mistura hexano: acetona e 0,1 mL de ACN Total = 0,15	<25% dos materiais vêm de fontes renováveis ou pode ser reutilizado	20 mL de amostra, 0,05 mL mistura hexano: acetona e 0,1 mL de ACN Total = 20,15	20 mL	1 (60 min por amostra)	Etapas: (1) Impregnação da membrana, (2) Adição de amostra e mistura de solvente extrator e dispersor (3) dessorção. Procedimento manual	LC	4 materiais perigosos (octanol, hexano, acetona e ACN)	0,32
VIDAL et al., 2010.	<i>Ex-situ</i>	0,01 mL de IL	<25% dos materiais vêm de fontes renováveis ou pode ser reutilizado	20 mL de amostra e 0,01 mL de IL Total = 20,01	20 mL	1 (37 min por amostra)	Etapas: (1) Adição da amostra, (2) Gota de IL suspensa em seringa e exposta na amostra (3) coleta do IL. Procedimento manual	LC	1 material perigoso (IL)	0,47
GE e LEE, 2012.	<i>Ex-situ</i>	0,007 mL de IL	<25% dos materiais vêm de fontes renováveis ou pode ser reutilizado	10 mL de amostra e 0,007 mL de IL Total = 10,007 mL	10 mL	1 (50 min por amostra)	Etapas: (1) Impregnação da membrana, (2) Adição de amostra (3) coleta do IL. Procedimento manual	LC	1 material perigoso (IL)	0,49

Tabela A13. Descrição dos itens utilizados para cálculo do valor de AGREEprep para os métodos utilizados na Tabela comparativa 14. O valor de energia consumido pelos métodos não foi estimado. (Continuação)

Ref.	Local de preparo da amostra	Quantidade de materiais perigosos	Sustentabilidade, uso de fontes renováveis e reutilizáveis	Itens AGREEPrep				Equipamento utilizado pós-preparo	Segurança do operador	Pontuação
				Resíduo gerado	Tamanho da amostra	Frequência analítica (amostras/hora)	Integração e automação			
DA SILVA et al., 2019a	<i>Ex-situ</i>	0,005 mL de MeOH:ACN e 0,1 g de MIL e 0,02 mL de ACN Total = 0,125	<25% dos materiais vêm de fontes renováveis ou pode ser reutilizado	3 mL de amostra, 0,005 mL de MeOH:ACN e 0,1 g de MIL e 0,02 mL de ACN Total = 3,125	3 mL	12 (5 min por amostra)	Etapas: (1) Adição de amostra e mistura de solventes, (2) agitação, (3) separação magnética e diluição do MIL. Procedimento manual	LC	3 Materiais perigosos (MIL, MeOH e ACN)	0,48
ABDALLAH , 2020.	<i>Ex-situ</i>	1,5 mL de ACN e 0,125 mL CHCl ₃ Total = 1,625	<25% dos materiais vêm de fontes renováveis ou pode ser reutilizado	1,5 mL de ACN, 1 mL de H ₂ O, 7,5 mL de amostra e 0,125 mL de CHCl ₃ Total = 10,125	7,5 mL	12 (5 min por amostra)	Etapas: (1) Adição de amostra e água e solvente dispersor, (2) adição de solvente extrator, (3) Centrifugação e evaporação da fase orgânica. Procedimento manual	GC-MS/MS	2 materiais perigosos (ACN e CHCl ₃)	0,4

Tabela A13. Descrição dos itens utilizados para cálculo do valor de AGREEPrep para os métodos utilizados na Tabela comparativa
14. O valor de energia consumido pelos métodos não foi estimado. (Continuação)

Ref.	Local de preparo da amostra	Quantidade de materiais perigosos	Sustentabilidade, uso de fontes renováveis e reutilizáveis	Itens AGREEPrep				Equipamento utilizado pós-preparo	Segurança do operador	Pontuação
				Resíduo gerado	Tamanho da amostra	Frequência analítica (amostras/hora)	Integração e automação			
Este trabalho	<i>Ex-situ</i>	0,004 g MIL (CP + LiNTf ₂) e 0,02 mL de ACN Total = 0,024	<25% dos materiais vêm de fontes renováveis ou pode ser reutilizado	Volume total de 1,5 mL	1,25 mL	76 (0,78 min por amostra)	Etapas: (1) Adição de amostra e CP, (2) Adição de LiNTf ₂ , (3) Agitação, (4) Coleta ímas e diluição do MIL. Procedimento Semi-automatizado	LC	3 materiais perigosos (CP, LiNTf ₂ e ACN)	0,6

Tabela A14. Tabela ANOVA obtida para o planejamento Doehlert para massa de MIL e tempo de extração.

Fator	SS	df	MS	F	p
(1)Tempo (min)(L)	1,04E+10	1	1,04E+10	0,560	0,482
Tempo (min)(Q)	3,76E+09	1	3,76E+09	0,202	0,668
(2)Massa (mg)(L)	4,98E+10	1	4,98E+10	2,682	0,152
Massa (mg)(Q)	1,39E+11	1	1,39E+11	7,514	0,034
1L por 2L	1,04E+10	1	1,04E+10	0,561	0,482
Falta de ajuste	5,66E+07	1	5,66E+07	0,003	0,958
Erro puro	1,11E+11	6	1,86E+10		
Total SS	3,74E+11	12			

Tabela A15. Descrição dos itens utilizados para cálculo do valor de AGREEprep para os métodos utilizados na Tabela comparativa 20. O valor de energia consumido pelos métodos não foi estimado.

Ref.	Local de preparo da amostra	Quantidade de materiais perigosos	Sustentabilidade, uso de fontes renováveis e reutilizáveis	Itens AGREEPrep					Pontuação	
				Resíduo gerado	Tamanho da amostra	Frequência analítica (amostras/hora)	Integração e automação	Equipamento utilizado pós-preparo		Segurança do operador
MACHADO et al., 2014	Ex-situ	5 mL de CH ₂ Cl ₂ , 5 mL MeOH, 10 mL ACN, 50 mL Acetato de etila Total = 70 mL	<25% dos materiais vêm de fontes renováveis ou pode ser reutilizado	5 mL de CH ₂ Cl ₂ , 5 mL MeOH, 5 mL H ₂ O, 10 mL ACN, 50 mL de amostra, 50 mL Acetato de etila Total = 125 mL	50 mL	Não encontrado	Etapas: (1) Condicionamento do cartucho, (2) Eluição da amostra, (3) Eluição solvente, (4) Evaporação e reconstituição do extrato. Procedimento manual	GC-MS	4 materiais perigosos (CH ₂ Cl ₂ , MeOH, ACN e acetato de etila)	0,28
DA SILVA et al., 2019	Ex-situ	10 mL de CH ₂ Cl ₂ e 1 mL de acetato de etila Total = 11 mL	<25% dos materiais vêm de fontes renováveis ou pode ser reutilizado	10 mL de CH ₂ Cl ₂ , 1 mL de acetato de etila e 20 mL de amostra Total = 31 mL	20 mL	5 (11 min por amostra)	Etapas: (1) Adição de amostra e agitação, (2) adição de sais e agitação, (3) centrifugação e (4) coleta da fase orgânica, evaporação e reconstituição. Procedimento manual	GC-MS/MS	2 materiais perigosos (CH ₂ Cl ₂ e acetato de etila)	0,31

Tabela A15. Descrição dos itens utilizados para cálculo do valor de AGREEprep para os métodos utilizados na Tabela comparativa 20. O valor de energia consumido pelos métodos não foi estimado. (Continuação)

Ref.	Local de preparo da amostra	Quantidade de materiais perigosos	Sustentabilidade, uso de fontes renováveis e reutilizáveis	Itens AGREEPrep					Pontuação	
				Resíduo gerado	Tamanho da amostra	Frequência analítica (amostras/hora)	Integração e automação	Equipamento utilizado pós-preparo		Segurança do operador
BARBOSA et al., 2022.	<i>Ex-situ</i>	5 mL de CH ₂ Cl ₂ , 5 mL MeOH, 10 mL ACN, 50 mL Acetato de etila Total = 70 mL	<25% dos materiais vêm de fontes renováveis ou pode ser reutilizado	5 mL de CH ₂ Cl ₂ , 5 mL MeOH, 5 mL H ₂ O, 10 mL ACN, 50 mL de amostra, 50 mL Acetato de etila Total = 125 mL	50 mL	Não encontrado	Etapas: (1) Condicionamento do cartucho, (2) Eluição da amostra, (3) Eluição solvente, (4) Evaporação e reconstituição do extrato. Procedimento manual	LC	4 materiais perigosos (CH ₂ Cl ₂ , MeOH, ACN e acetato de etila)	0,28
CACHO et al., 2016.	<i>Ex-situ</i>	0,04 mL de CCl ₄	<25% dos materiais vêm de fontes renováveis ou pode ser reutilizado	5 mL de amostra e 0,04 mL de CCl ₄ Total = 5,04	5 mL	30 (2 min por amostra)	Etapas: (1) Adição de amostra e sal, (2) adição do solvente extrator seguido de banho ultrassônico, (3) Centrifugação e coleta da fase orgânica Procedimento manual	GC-MS	1 material perigoso (CCl ₄)	0,57

Tabela A15. Descrição dos itens utilizados para cálculo do valor de AGREEprep para os métodos utilizados na Tabela comparativa 20. O valor de energia consumido pelos métodos não foi estimado. (Continuação)

Ref.	Local de preparo da amostra	Quantidade de materiais perigosos	Sustentabilidade, uso de fontes renováveis e reutilizáveis	Itens AGREEprep				Equipamento utilizado pós-preparo	Segurança do operador	Pontuação
				Resíduo gerado	Tamanho da amostra	Frequência analítica (amostras/hora)	Integração e automação			
TRUJILLO-RODRÍTRU JILLO-RODRGUE Z et al., 2016	<i>Ex-situ</i>	0,02 mL de MIL, 0,5 mL de acetona, 1 mL de hexano e 0,3 mL de ACN Total = 1,82	<25% dos materiais vêm de fontes renováveis ou pode ser reutilizado	0,02 mL de MIL, 0,5 mL de acetona, 1 mL de hexano, 0,3 mL de ACN e 10 mL de amostra Total = 11,82	10 mL	4 (15 min por amostra)	<p>Etapas: (1) Adição da amostra e sal, (2) adição do MIL e solvente dispersor seguida de agitação por vortex, (3) agitação com barra, (4) coleta do ímã e procedimento de reextração, (5) separação do solvente seguida de evaporação e reconstituição. Procedimento manual</p>	LC	4 materiais perigosos (MIL, acetona, hexano e ACN)	0,3
YU, MERIB e ANDERSON, 2016.	<i>Ex-situ</i>	0,03 g de MIL e 0,025 mL de ACN Total = 0,055	<25% dos materiais vêm de fontes renováveis ou pode ser reutilizado	0,03 g de MIL, 0,025 mL de ACN e 5 mL de amostra Total = 5,055	5 mL	30 (2 min por amostra)	<p>Etapas: (1) Adição de amostra e mistura de solventes, (2) agitação, (3) separação magnética e diluição do MIL. Procedimento manual</p>	LC	2 materiais perigosos (MIL e ACN)	0,53

Tabela A15. Descrição dos itens utilizados para cálculo do valor de AGREEprep para os métodos utilizados na Tabela comparativa 20. O valor de energia consumido pelos métodos não foi estimado. (Continuação)

Ref.	Local de preparo da amostra	Quantidade de materiais perigosos	Sustentabilidade, uso de fontes renováveis e reutilizáveis	Itens AGREEprep				Equipamento utilizado pós-preparo	Segurança do operador	Pontuação
				Resíduo gerado	Tamanho da amostra	Frequência analítica (amostras/hora)	Integração e automação			
BENEDÉ, ANDERSON e CHISVERT, 2018.	<i>Ex-situ</i>	0,025 mL de MIL	<25% dos materiais vêm de fontes renováveis ou pode ser reutilizado	0,025 mL de MIL e 25 mL de amostra. Total = 25,025	25 mL	6 (10 min por amostra)	<p>Etapas: (1) Adição de MIL e amostra, (2) agitação (3) separação magnética e coleta do MIL para dessorção térmica dos analitos. Procedimento manual</p>	GC-MS	1 material perigoso (MIL)	0,48
TRUJILLO-RODRÍGUEZ e ANDERSON, 2019a	<i>Ex-situ</i>	0,03 g de MIL, 0,3 mL de solvente dispersor (ACN ou acetona), 0,1 mL de ACN Total = 0,43	<25% dos materiais vêm de fontes renováveis ou pode ser reutilizado	0,03 g de MIL, 0,3 mL de solvente dispersor, 0,1 mL de ACN e 5 mL de amostra. Total = 5,43	5 mL	20 (3 min por amostra)	<p>Etapas: (1) Adição da amostra com pH e sal ajustado e solução do CP e solvente dispersor, (2) adição do trocador aniônico, (3) agitação por vórtex, (4) separação magnética e diluição do MIL. Procedimento manual</p>	LC	3 materiais perigosos (CP e LiNTf ₂ (MIL) acetona e ACN)	0,41

Tabela A15. Descrição dos itens utilizados para cálculo do valor de AGREEprep para os métodos utilizados na Tabela comparativa 20. O valor de energia consumido pelos métodos não foi estimado. (Continuação)

Ref.	Local de preparo da amostra	Quantidade de materiais perigosos	Sustentabilidade, uso de fontes renováveis e reutilizáveis	Itens AGREEprep				Equipamento utilizado pós-preparo	Segurança do operador	Pontuação
				Resíduo gerado	Tamanho da amostra	Frequência analítica (amostras/hora)	Integração e automação			
Este trabalho	<i>Ex-situ</i>	~10 mg de MIL formado e 25 µL de ACN Total ~ 0,04 g	<25% dos materiais vêm de fontes renováveis ou pode ser reutilizado	Volume total utilizado é de 1,5 mL	1,2 mL	63 (0,94 min por amostra)	Etapas: (1) Adição de amostra e CP, (2) Adição de LiNTf ₂ , (3) Agitação, (4) Coleta ímas e diluição do MIL. Procedimento Semi-automatizado	LC	3 materiais perigosos (CP, LiNTf ₂ e ACN)	0,58

Atividades realizadas no período do doutorado (2020 – 2024).

Artigos publicados:

- 1) COMELLI, Heloisa; WILL, Camila; MORÉS, Lucas; BERNARDI, Gabrieli; CARASEK, Eduardo. Disposable Pipette Extraction (DPX) Coupled to HPLC-DAD as an Alternative for the Determination of Phthalic Monoesters in Urine Samples. *Separations*, v. 9, p. 294, 2022.
- 2) HUELSMANN, Ricardo Dagnoni; WILL, Camila; CARASEK, Eduardo. Novel strategy for disposable pipette extraction (DPX): Low-cost Parallel-DPX for determination of phthalate migration from common plastic materials to saliva simulant with GC-MS. *TALANTA*, v. 221, p. 121443, 2021.
- 3) MAFRA, Gabriela; WILL, Camila; HUELSMANN, Ricardo; 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, 2021.
- 4) WILL, Camila; OMENA, Eduarda; CORAZZA, Gabriela; BERNARDI, Gabrieli; MERIB, Josias; CARASEK, Eduardo. 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*, v. 43, p. 2657-2665, 2020.
- 5) HUELSMANN, Ricardo Dagnoni; WILL, Camila; CARASEK, Eduardo. Determination of bisphenol A: Old problem, recent creative solutions based on novel materials. *JOURNAL OF SEPARATION SCIENCE*, v. 44, p. 1148-1173, 2020.
- 6) 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, 2020.

Coorientação no período do doutorado:

- 1) **Gabriela Ferreira Negro Garcia.** Uso de cortiça em pó como uma alternativa verde para fase extratora utilizando a técnica de extração em ponteira descartável paralela (Pa-DPX) para a determinação de agrotóxicos em

- amostras de água ambiental. 2022. Trabalho de Conclusão de Curso II (TCC-II). Graduação em Bacharelado em Química pela Universidade Federal de Santa Catarina. Orientador: Prof. Dr. Eduardo Carasek da Rocha.
- 2) **Amanda Vitória Santos.** Desenvolvimento de metodologia analítica utilizando solvente eutético profundo natural como fase extratora para técnica de extração líquido-líquido de membrana microporosa de fibra oca para determinação de biomarcadores de câncer de pulmão em urina humana. 2023. Trabalho de Conclusão para obtenção do Título de Mestre (Mestrado). Mestrado em Química. Orientador: Eduardo Carasek da Rocha
- 3) **Natália Zardo.** Uso de Solvente Eutético Profundo como Fase Extratora na Técnica de Extração Líquido-Líquido de Membrana Microporosa de Fibra Oca (HF-MMLLE) para a Determinação de Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos em Amostras de Chá. 2023. Trabalho de Conclusão de Curso I (TCC-I). Graduação em Bacharelado em Química pela Universidade Federal de Santa Catarina. Orientador: Prof. Dr. Eduardo Carasek da Rocha.