



FURG

Tese de Doutorado

**DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS ANALÍTICOS
VERDES PARA DETERMINAÇÃO MULTIRESÍDUO DE
AGROTÓXICOS, FÁRMACOS E PRODUTOS DE
CUIDADO PESSOAL EM AMOSTRAS DE ÁGUA**

Liziane Cardoso Marube

PPGQTA

Rio Grande

2016

LIZIANE CARDOSO MARUBE

**DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS ANALÍTICOS VERDES PARA
DETERMINAÇÃO MULTIRESÍDUO DE AGROTÓXICOS, FÁRMACOS E
PRODUTOS DE CUIDADO PESSOAL EM AMOSTRAS DE ÁGUA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em
Química Tecnológica e Ambiental da Universidade
Federal do Rio Grande - FURG, para obtenção do título
de Doutor em Química.

Orientador: Prof.Dr. Ednei Gilberto Primel

RIO GRANDE

2016

Dedico esta tese A Laura, Newton e Sandra. Sem vocês nada disso seria possível.

Agradecimentos

Em primeiro lugar, agradeço a **Deus** pela vida, por guiar o meu caminho, me dando força e tranquilidade para seguir em frente. Obrigada por ter colocado pessoas tão especiais ao meu lado, sem elas certamente não teria dado conta de conquistar essa vitória.

Ao **Prof. Dr. Ednei Gilberto Primel** pela oportunidade, pela orientação nesse trabalho, pelo apoio e incentivo. E por toda a confiança depositada em mim. Meu muito obrigada!

A **Dra. Sergiane Caldas Barbosa**, sempre disponível e disposta a ajudar e quem admiro muito profissionalmente. Tenho aprendido muito com ela durante esses anos todos de convivência. Sem palavras para agradecer todo o apoio prestado nesse trabalho, você me incentivou e me ajudou muito. Além disso, agradeço pelas valiosas sugestões ao longo de todo o trabalho e também pela amizade e os momentos de descontração.

Ao **Prof. Dr. Osmar Damian Prestes** pela disponibilidade em participar no exame de qualificação e na defesa da tese sempre com seu carisma encantador, muito obrigada pelas valiosas sugestões. Admiro muito você não somente como profissional, mas como ser humano por sua simplicidade, inteligência e carisma.

Ao **Prof. Dr. Daniel Ricardo Arsand** pela disposição em participar na defesa da tese e pelas valiosas sugestões na finalização deste estudo.

Ao **Prof. Dr. Fábio Ferreira Gonçalves** meu orientador no mestrado e com quem aprendi muito durante o mestrado, onde foi o começo de tudo. Agradeço também pelas sugestões no exame de qualificação e pela disponibilidade em participar na defesa da tese. Além disso, pela amizade durante estes anos.

Ao **Prof. Dr. Manoel Leonardo Martins** pela disponibilidade em participar do exame de qualificação e da defesa da tese e pelas valiosas sugestões para a finalização desse estudo.

A minha **mãe**, a pessoa que mais me orgulho nesse mundo, pela garra e determinação. Sem você eu não seria o que sou hoje, não tenho palavras para agradecer todo o carinho e dedicação que você dedica a mim.

Ao meu **Irmão Marcos** que sempre me incentivou e torceu por mim durante essa caminhada.

Ao meu esposo **Newton** que é um dos maiores incentivadores dessa conquista, obrigada pela parceira, companheirismo, por estar sempre ao meu lado nos piores momentos, que não foram raros nesses últimos anos, mas você sempre me fez acreditar que eu iria chegar ao final dessa batalha. Sem palavras para agradecer o que você fez e faz por mim, mesmo as vezes contra à sua vontade você me dá total apoio. Obrigada por fazer parte da minha vida, te amo muito.

A minha razão de viver, a **Laura** que nasceu junto com esse trabalho e que na barriga me acompanhou em um doutorado sanduíche. Você me tornou em uma pessoa melhor e me mostrou que a vida é muito mais que obter 100% de recuperações. O que sinto por você é algo divino sem explicação é um sentimento eterno.

A todos os meus amigos **Igor, Renata, Nanda, Shaiane e Gleidson** que sempre me proporcionam momentos de descontração e torcem por mim. Os quais tornaram todos os momentos mais alegres e agradáveis.

A minha família de Santa Catarina que amo muito e foram essências nessa jornada.

Ao meu **Tio Francisco (Tio Beto)** por todos os momentos de descontração e todo o apoio e ajuda prestado a mim. Sem palavras para agradecer.

Aos todos os **colegas do LACOM** os quais passei momentos muito agradáveis, e que contribuíram e me ajudaram de diversas formas, um enorme carinho e admiração por todos. Agradeço a colega Liziara que não está mais no LACOM, mas que ainda está em nossos corações.

Agradeço a minha amiga **Maris** pela amizade, por escutar minhas angústias e por me dar conselhos valiosos. Que Deus continue sempre te iluminando, você é uma pessoa muito especial.

A minha amiga **Elisane**, uma pessoa maravilhosa que cuidou de mim e da Laura muito bem em Cabo Verde. Agradeço muito pelas tuas sugestões e a amizade nessa jornada. Acredite sempre no seu potencial!

As minhas amigas vida louca **Karina e Gabi** pessoas fantásticas e divertidas, sem as quais não conseguiram manter a minha sanidade mental durante esses 4 anos, é um privilégio poder contar com a alegria de vocês.

A **Rosane**, secretária do PPGQTA por toda atenção e ajuda durante essa jornada.

A **Marli e a Dona Ana**, que todas as manhãs me contagiavam com sua alegria.

À **FURG** pela oportunidade, principalmente pelo ensino gratuito e de qualidade.

Aos **professores** do Programa de Pós-Graduação em Química Tecnológica e Ambiental, os quais auxiliaram na minha formação acadêmica.

Agradeço também aos **mexicanos** que me receberam tão bem durante o tempo que estive lá, Dona Sonia obrigada por tudo. E também aos Cabo verdianos.

A CAPES e o CNPq pelo auxílio financeiro e pela a possibilidade de realizar um doutorado sanduíche. Agradeço também ao programa Exceed/DAAD pela possibilidade do estudo realizado no México. Além disso, agradeço os professores Dr. Ayrton Figueiredo Martins e Gionara Tauchen pelas oportunidades.

Agradeço também a todos familiares, amigos e pessoas que torceram por mim. Meu muito obrigada!

Tente uma, duas, três vezes e se possível tente a quarta, a quinta e quantas vezes for necessário. Só não desista nas primeiras tentativas, a persistência é amiga da conquista. Se você quer chegar aonde a maioria não chega, faça o que a maioria não faz.

Bill Gates

RESUMO

MARUBE L.C., **DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS ANALÍTICOS VERDES PARA DETERMINAÇÃO MULTIRESÍDUO DE AGROTÓXICOS, FÁRMACOS E PRODUTOS DE CUIDADO PESSOAL EM AMOSTRAS DE ÁGUA.** 2016. 201 f. Tese (Doutorado) - Escola de Química e Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, RS, 2016.

A etapa do preparo de amostra tem um papel vital no processo analítico, seja para análise qualitativa ou quantitativa. Entretanto o uso de técnicas de microextração para o preparo de amostra tem recebido atenção, uma vez que técnicas miniaturizadas visam reduzir o volume do solvente orgânico, diminuir a geração de resíduos, reduzem o número de etapas e diminuem o impacto negativo no ambiente e na saúde dos químicos analíticos. Dessa forma, o desafio deste trabalho foi estudar as técnicas de microextração líquido-líquido dispersiva com a solidificação da gota orgânica flutuante (DLLME-SFO, do inglês *dispersive liquid-liquid microextraction with the solidification of floating organic droplet*) e a microextração líquido-líquido dispersiva com líquido iônico (IL-DLLME, do inglês *ionic liquid-dispersive liquid-liquid microextraction*) sempre buscando métodos miniaturizados, rápidos, menos agressivos ao ambiente e que possibilitem a extração simultânea de fármacos e produtos de cuidado pessoal (PPCPs, do inglês *pharmaceuticals and personal care products*) e agrotóxicos de amostras de água. As determinações foram realizadas por cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas sequencial. Nas condições selecionadas para a DLLME-SFO (10 mL de amostra pH 2; solvente extrator, 100 µL de 1-dodecanol; solvente dispersor, 500 µL de metanol) os valores de recuperação (níveis LOQ, 5LOQ E 10LOQ) ficaram entre 70 e 120% com desvio padrão relativo inferior a 20%. Os limites de quantificação do método variaram entre 0,25 e 2,5 µg L⁻¹ para todos os analitos. As curvas analíticas apresentaram valores de coeficiente de correlação superiores a 0,99. A DLLME - SFO possibilitou a extração de 9 PPCPs e 17 agrotóxicos. Nas condições otimizadas para a IL-DLLME (10 mL de amostra pH 4; solvente extrator, 100 µL do líquido iônico hexafluorofosfato de 1-hexil-3-metilimidazólio [C₆MIM][PF₆]; solvente dispersor, 500 µL de metanol) os valores de recuperação (níveis LOQ, 5LOQ E 10LOQ) ficaram entre 70 e 120% com desvio padrão relativo inferior a 20%. Os limites de quantificação do método variaram entre 0,5 e 2,5 µg L⁻¹ para todos os analitos. As curvas analíticas apresentaram valores de coeficiente de correlação superiores a 0,99. A IL-DLLME possibilitou a extração de 16 PPCPs e 19 agrotóxicos. Os métodos foram aplicados em amostras de águas de superfície e o EM foi compensado pela quantificação por adição padrão.

Palavras-chaves: agrotóxicos; PPCPs; DLLME-SFO, IL-DLLME; miniaturização

ABSTRACT

MARUBE L.C., **DEVELOPMENT OF GREEN ANALYTICAL METHODS FOR MULTIRESIDUE DETERMINATION OF PESTICIDES, PHARMACEUTICALS AND PERSONAL CARE PRODUCTS IN WATER SAMPLES.** 2016. 201 p. Doctoral Dissertation - Escola de Química e Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, RS, 2016.

The sample preparation stage plays a vital role in the analytic process, either for qualitative or quantitative analysis. The use of microextraction techniques for sample preparation has received attention since miniaturized techniques aim to reduce the volume of organic solvents, reduce waste generation, as well as the number of steps and decrease the negative impact on the environment and on the health of analytical chemists. Thus, the challenge of the present research was to study dispersive liquid-liquid microextraction with the solidification of floating organic drop (DLLME-SFO) and ionic liquid-dispersive liquid-liquid microextraction (IL-DLLME) techniques, always seeking fast miniaturized methods, that are less harmful to the environment, and that enable the simultaneous extraction of pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) and pesticides from water samples. The determinations were performed by liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry. Under the conditions selected for the DLLME-SFO (10 mL of sample of pH 2; extractor solvent, 100 μL of 1-dodecanol; disperser solvent, 500 μL of methanol) the recovery values (LOQ levels, 5LOQ and 10LOQ) were between 70 and 120% with standard deviation being less than 20%. The limits of quantitation of the method varied between 0.25 and 2.5 $\mu\text{g L}^{-1}$ for all analytes. The analytical curves showed correlation coefficient values greater than 0.99. The DLLME - SFO enabled the extraction of PPCPs 9 and 17 pesticides. Under the optimized conditions for IL-DLLME (10 mL sample of pH 4; extractor solvent 100 μL of ionic liquid hexafluorophosphate of 1-hexyl-3-methylimidazolium [C_6MIM] [PF_6]; disperser solvent, 500 μL of methanol) recovery values (LOQ, 5LOQ and 10LOQ levels) were between 70 and 120% with standard deviation less than 20%. The limits of quantitation of the method varied between 0.5 and 2.5 $\mu\text{g L}^{-1}$ for all analytes. The analytical curves showed correlation coefficient values greater than 0.99. The IL-DLLME enabled the extraction of 16 PPCPs and pesticides 19. The methods were applied in surface water samples and Matrix Effect was offset by quantification by adding standard.

Keywords: pesticides; PPCPs; DLLME-SFO, IL-DLLME; miniaturization

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Etapas envolvidas na DLLME.	35
Figura 2 - Principais Modificações da DLLME.....	39
Figura 3 - Etapas envolvidas na DLLME-SFO.....	43
Figura 4 - Número de publicações usando as palavras-chave ionic liquid by dispersive liquid–liquid microextraction nos últimos oito anos.....	48
Figura 5 - Principais classes de cátions de líquidos iônicos.....	52
Figura 6 - Principais classes de ânions de líquidos iônicos.....	53
Figura 7 - Esquema do procedimento de extração da IL-DLLME com a temperatura controlada.	58
Figura 8 - Imagem do Google Earth para os pontos de coleta das amostras de água utilizadas na aplicação do método.	70
Figura 9 - Imagem do Google Earth para os pontos de coleta das amostras de água utilizadas na aplicação do método.	71
Figura 10 – Esquema da DLLME - SFO. (a) amostra de água e mistura dos solventes extratores e dispersores (b) adição da mistura dos solventes e formação da solução turva (c) centrifugação (d) banho de gelo (e) solidificação da gota orgânica (f) retirada da gota orgânica solidificada com auxílio de uma espátula (g) eppendorf com a gota orgânica solidificada	75
Figura 11 - Sobreposição dos cromatogramas de íons no modo total (TIC) funções monitoradas para eluição no modo gradiente conforme condições descritas na Tabela 7. Concentração da mistura de 1000 µg L ⁻¹	88
Figura 12 - Efeito do tipo do solvente extrator e dispersor na DLLME -SFO na recuperação de agrotóxicos e PPCPs em água potável. Condições de extração: 10 mL de amostra fortificada com 5 µg L ⁻¹ ; pH da amostra: 6,6; volume do solvente extrator: 100 µL; solvente dispersor: 2 mL; centrifugação: 4000 rpm por 5 min. As barras de erros indicam valores de RSD.....	91
Figura 13 - Efeito do volume do solvente extrator na DLLME-SFO na recuperação de agrotóxicos e PPCPs em água potável. Condições de extração: 10 mL de amostra fortificada com 5 µg L ⁻¹ ; pH da amostra: 6,6; solvente dispersor: 2 mL; centrifugação: 4000 rpm por 5 min. As barras de erros indicam valores de RSD	96

Figura 14 - Efeito do volume do solvente dispersor na DLLME-SFO na recuperação de agrotóxicos e PPCPs em água potável. Condições de extração: 10 mL de amostra fortificada com 5 $\mu\text{g L}^{-1}$; pH da amostra: 6,6; solvente extrator: 100 μL ; centrifugação: 4000 rpm por 5 min. As barras de erros indicam valores de RSD	100
Figura 15 - Efeito do pH da amostra na DLLME-SFO na recuperação de agrotóxicos e PPCPs em água potável. Condições de extração 10 mL de amostra fortificada com 5 $\mu\text{g L}^{-1}$; solvente extrator: 100 μL ; solvente dispersor: 500 μL ; centrifugação: 4000 rpm por 5 min. As barras de erros indicam valores de RSD.....	106
Figura 16 - Efeito da força iônica na DLLME-SFO na recuperação de agrotóxicos e PPCPs em água potável. Condições de extração: 10 mL de amostra fortificada com 5 $\mu\text{g L}^{-1}$ pH 2; solvente extrator: 100 μL ; solvente dispersor: 500 μL ; centrifugação: 4000 rpm por 5 min. As barras de erros indicam valores de RSD.....	110
Figura 17 - Cromatograma no modo TIC para as cinco funções monitoradas da matriz (água potável) fortificada na concentração de 5 $\mu\text{g L}^{-1}$	125
Figura 18 - Efeito matriz (água potável) para os analitos em estudo , calculado pela inclinação das curvas analíticas preparadas no solvente e no extrato da matriz	127
Figura 19 - Efeito do tipo do solvente extrator e dispersor na IL-DLLME na recuperação de agrotóxicos e PPCPs em água potável. Condições de extração: 10 mL de amostra fortificada com 5 $\mu\text{g L}^{-1}$; pH da amostra: 6,3; volume do solvente extrator: 100 μL ; solvente dispersor: 0,5 mL; centrifugação: 5000 rpm por 10 min. As barras de erros indicam valores de RSD.....	137
Figura 20 - Efeito do volume do líquido iônico na IL-DLLME na recuperação de agrotóxicos e PPCPs em água potável. Condições de extração: 10 mL de amostra fortificada com 5 $\mu\text{g L}^{-1}$; pH da amostra: 6,4; solvente dispersor: 0,5 mL; centrifugação: 5000 rpm por 10 min. As barras de erros indicam valores de RSD.....	139
Figura 21 - Efeito do volume do solvente dispersor na IL-DLLME na recuperação de agrotóxicos e PPCPs em água potável. Condições de extração:10 mL de amostra fortificada com 5 $\mu\text{g L}^{-1}$; pH da amostra: 6,4;	

solvente extrator: 100 μL ; centrifugação: 5000 rpm por 10 min. As barras de erros indicam valores de RSD.....	143
Figura 22 - Efeito do pH da amostra na IL-DLLME na recuperação de agrotóxicos e PPCPs em água potável. Condições de extração: 10 mL de amostra fortificada com 5 $\mu\text{g L}^{-1}$; solvente extrator: 100 μL ; solvente dispersor: 500 μL ; centrifugação: 5000 rpm por 10 min. As barras de erro indicam valores de RSD.....	147
Figura 23 - Efeito do sal na amostra na IL-DLLME na recuperação de agrotóxicos e PPCPs em água potável. Condições de extração: 10 mL de amostra fortificada com 5 $\mu\text{g L}^{-1}$; pH da amostra:4; solvente extrator: 100 μL ; solvente dispersor: 500 μL ; centrifugação: 5000 rpm por 10 min. As barras de erros indicam valores de RSD.....	150
Figura 24 - Efeito matriz (água potável) para os analitos em estudo , calculado pela inclinação das curvas analíticas preparadas no solvente e no extrato da matriz.	166
Figura 25 - Comparação dos métodos propostos com o método de referência para extração de analitos orgânicos de amostra de água.....	173

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Trabalhos empregando DLLME-SFO para extração de compostos orgânicos em amostras ambientais de águas	44
Tabela 2 - Trabalhos empregando IL-DLLME para extração de compostos orgânicos em amostras ambientais de água	49
Tabela 3 - Propriedades físico-químicas dos líquidos iônicos mais usados na DLLME.	55
Tabela 4 - Valores de coeficiente de partição octanol-água (Kow), solubilidade em água, pka, número CAS e uso dos PPCPs e agrotóxicos em estudo (DRUGBANK; TOMLIN, 2003)	66
Tabela 5 - Propriedades físico-químicas para os solventes estudados (CETESB).....	76
Tabela 6 - Agrotóxicos e PPCPs quantificados por LC-MS/MS, modo de ionização, transições monitoradas, energia do cone e voltagem de colisão	84
Tabela 7 - Condições de eluição empregadas no modo gradiente	87
Tabela 8 - Condições empregadas no sistema cromatográfico LC-MS/MS	87
Tabela 9 - Resultados em área após extração por DLLME-SFO com diferentes combinações de solvente extratores e dispersores.....	92
Tabela 10 - Resultados em área após extração por DLLME-SFO com diferentes volumes de solvente extrator.....	97
Tabela 11 - Resultados em área após extração por DLLME-SFO com diferentes volumes de solvente dispersor	101
Tabela 12 - Resultados em área após extração por DLLME-SFO em diferentes valores de pH	107
Tabela 13 - Área dos picos empregando diferente tipos de sais na DLLME-SFO ..	111
Tabela 14 - Limite de detecção instrumental (LODi), Limite de Quantificação instrumental (LOQi), limite de detecção do método (LODm) e limite de quantificação do método (LOQm)	113
Tabela 15 - Comparação entre os LOQm dos agrotóxicos na DLLME-SFO com os limites regulamentados pela Portaria RS/SES nº 320, Portaria MS nº2914 e a legislação da União Europeia.....	115
Tabela 16 - Resultados obtidos para as curvas analíticas	118
Tabela 17 - Resultados obtidos para as curvas trabalho	119

Tabela 18 - Recuperações e desvio padrão relativo (RSD) para as amostras de água fortificadas em diferentes níveis	122
Tabela 19 - Dados de pH e turbidez para as amostras coletadas para verificar a aplicabilidade do método.....	128
Tabela 20 - Comparação da DLLME-SFO proposta com outros métodos empregados para extração de agrotóxicos e PPCPs de amostras de água com determinação por LC-MS/MS	132
Tabela 21 - Resultados em área após extração por IL-DLLME do solvente extrator com diferentes dispersores	134
Tabela 22 - Resultados em área após extração por IL-DLLME com diferentes volumes de solvente extrator.....	140
Tabela 23 - Resultados em área após extração por IL-DLLME com diferentes volumes de solvente dispersor	144
Tabela 24 - Resultados em área após extração por IL-DLLME em diferentes valores de pH	148
Tabela 25 - Resultados em área após extração por IL-DLLME com diferentes sais.....	151
Tabela 26 - Limite de detecção instrumental (LODi), Limite de Quantificação instrumental (LOQi), limite de detecção do método (LODm) e limite de quantificação do método (LOQm)	153
Tabela 27 - Comparação entre os LOQm dos agrotóxicos na IL – DLLME com os limites regulamentados pela Portaria RS/SES nº 320, Portaria MS nº2914 e a legislação da União Europeia.....	156
Tabela 28 - Resultados obtidos para as curvas analíticas	157
Tabela 29 - Resultados obtidos para as curvas trabalho	160
Tabela 30 - Recuperações e desvio padrão relativo (RSD) para as amostras de água fortificadas em diferentes níveis	162
Tabela 31 - Comparação da IL-DLLME proposta com outros trabalhos empregados para extração de agrotóxicos e PPCPs em amostras de água	168
Tabela 32 - Principais diferenças entre os métodos.....	169

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

[BMIM][PF₆], bis(trifluorometanosulfonil)imida de 1-butil-2,3-dimetilimidazólio

[C₄MIM][PF₆], hexafluorofosfato de 1-butil-3-metilimidazólio

[C₆MIM][PF₆], hexafluorofosfato de 1-hexil-3-metilimidazólio

[C₈MIM][PF₆], hexafluorofosfato de 3-metil-1-octil-imidazólio

[HMIM][FAP] 1-hexil-3-metilimidazólio tris(pentafluoretil)trifluorofosfato

[HMIM][PF₆] hexafluorofosfato de 1-metil-3-hexilimidazólio

[BMIM][NTf₂] 1-butil-3-metilimidazólio, bis [(trifluormetil)]sulfanil(imida)

AA, assistida por ar, do inglês *air assisted*

AALLME, microextração líquido-líquido agitada pelo ar, do inglês *air-agitated liquid-liquid microextraction*

C18, Sílica modificada com hidrocarboneto linear C₁₈, octadecilsilano

C8, Sílica modificada com hidrocarboneto linear C₈, octilsilano

CTAB, brometo de cetiltrimetilamônio, do inglês *cetyltrimethyl ammonium bromide*

DLLME, microextração líquido-líquido dispersiva, do inglês *dispersive liquid-liquid microextraction*

DLLME-SFO, microextração líquido-líquido dispersiva com solidificação da gota orgânica flutuante, do inglês *dispersive liquid-liquid microextraction based on solidification of floating organic drop*

DDT, Dicloro-difenil-tricloroetano

D-SPE, extração em fase sólida dispersiva, do inglês *dispersive solid phase extraction*

DUSA-DLLME, microextração líquido-líquido dispersiva assistida por ultrassom direto, do inglês *direct ultrasound-assisted dispersive liquid-liquid microextraction*

ECD, detector por captura de elétron, do inglês *gas chromatography with electron-capture detection detector*

EM, efeito matriz

EPA, agência de proteção ambiental, do inglês *environmental protection agency*

ESI, ionização por eletrospray, do inglês *electrospray ionization*

ETAAS, espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica, do inglês *electrothermal atomic absorption spectrometry*

ETE, Estação de tratamento de esgoto

eV – elétron-Volt

FAAS, espectroscopia de absorção atômica de chama, do inglês *flame atomic absorption spectrometry*

FLD, detector por fluorescência, do inglês *fluorescence detector*

GC, cromatografia gasosa, do inglês *gas chromatography*

GCB, carbono grafitizado, do inglês *graphitized carbon black*

GC-ECD, GC acoplada ao detector de captura de elétrons, do inglês *gas chromatography with electron capture detector*

GC-FID, cromatografia gasosa com detector por ionização em chama, do inglês *gas chromatography with flame ionization detector*

GC-MS, cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas, do inglês *gas chromatography with mass spectrometry detector*

GC-MS/MS, GC acoplada a espectrometria de massas sequencial, do inglês *GC tandem mass spectrometry*

HF-LPME, microextração de fase líquida com fibras ocas, do inglês *hollow fiber liquid phase microextraction*

HPAS, hidrocarbonetos policíclicos aromáticos

HPLC-DAD, cromatografia líquida de alta eficiência acoplada ao detector de arranjo de diodos, do inglês *high pressure liquid chromatography with diode array detector*

HPLC-UV, cromatografia líquida de alta eficiência acoplada ao detector ultravioleta, do inglês *high performance liquid chromatography with ultraviolet detector*

HPLC-VWD, cromatografia líquida de alta eficiência com detector de comprimento de onda variável, do inglês *ultra-high-pressure liquid chromatography with variable wavelength detection*

HPLC-FLD, cromatografia líquida de alta eficiência com detector por fluorescência, do inglês *ultra-high-pressure liquid chromatography with fluorescence detector*

IL – líquido iônico, do inglês *ionic liquid*

IL-DLLME, microextração líquido-líquido dispersiva com líquido iônico, do inglês *ionic liquid dispersive liquid-liquid microextraction*

ISD-DLLME, microextração líquido-líquido dispersiva com demulsificação na seringa, do inglês *in-syringe demulsified dispersive liquid-liquid microextraction*

IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

INMETRO, Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial

Kow, coeficiente de partição octanol-água

K_{oc} , coeficiente de partição de carbono orgânico

LC, cromatografia líquida, do inglês *liquid chromatography*

LC-MS/MS, cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas em série, do inglês *liquid chromatography tandem mass spectrometry*

LLE, extração líquido-líquido, do inglês *liquid-liquid extraction*

LMR, limite máximo de resíduo

LOD, limite de detecção, do inglês *limit of detection*

LOQ, limite de quantificação, do inglês *limit of quantification*

LPME, microextração em fase líquida, do inglês *liquid phase microextraction*

LT - DLLME, microextração líquido-líquido dispersiva com solvente de baixa toxicidade, do inglês *low toxic dispersive liquid-liquid microextraction*

TC-IL-DLLME, microextração líquido-líquido dispersiva com líquido iônico com temperatura controlada, do inglês *temperature-controlled ionic liquid dispersive liquid-liquid microextraction*

m/z , razão massa-por-carga

SRM, monitoramento de reações selecionadas, do inglês *selected reaction monitoring*

MR-IL- DLLME, microextração líquido-líquido dispersão com líquido iônico assistida por agitação magnética, do inglês *magnetic stirring-assisted ionic liquid dispersive liquid-liquid microextraction*

MS, espectrometria de massas, do inglês *mass spectrometry*

MSPME, microextração em fase sólida magnética, do inglês *magnetic solid phase microextraction*

MR-IL-DLLME microextração líquido-líquido dispersiva com líquido iônico combinada com recuperação magnética, do inglês *ionic liquid dispersive liquid-liquid microextraction technique combined with magnetic retrieval*

NPD, detector de nitrogênio-fósforo, do inglês *gas chromatography with nitrogen-phosphorus detector*

OMS, Organização Mundial da Saúde

ONU - Organização das Nações Unidas

PDLLME, microextração líquido-líquido dispersiva particionada, do inglês *partitioned dispersive liquid-liquid microextraction*;

PF- fator de pré concentração

pH, potencial hidrogeniônico

pK_a, potencial de dissociação ácida

PLE, extração com líquido pressurizado, do inglês *pressurized liquid extraction*

PPCPs, Fármacos e Produtos de Cuidado Pessoal, do inglês *Pharmaceuticals and Personal Care Products*

PSA, Amina primária secundária, do inglês *Primary Secondary Amine*

r, coeficiente de correlação linear

RSD, Desvio Padrão Relativo, do inglês *Relative Standard Deviation*

RSD_{pi}, Desvio Padrão Relativo para Precisão Intermediária

RSD_r, Desvio Padrão Relativo para Repetitividade

RTIL, líquidos iônicos a temperatura ambiente, do inglês *room temperature ionic liquids*; ¹

s, estimativa do desvio padrão absoluto

s/n, relação sinal-ruído

SBSE, extração sortiva em barra de agitação, do inglês *stir-bar sorptive extraction*

SDME, microextração em gota suspensa, do inglês *single drop microextraction*

SEV, recipiente de extração silanizado, do inglês *silylated extraction vessel*

SFDME, microextração em fase líquida baseada na solidificação da gota orgânica flutuante, do inglês *liquid-phase microextraction method based on solidification of floating organic droplet*

DLLME-SFO, microextração líquido-líquido dispersiva baseado na solidificação da gota orgânica flutuante, do inglês *dispersive liquid-liquid microextraction based on solidification of a floating organic drop*

SPE, extração em fase sólida, do inglês *solid phase extraction*

SPME, microextração em fase sólida, do inglês *solid-phase microextraction*

ST-DLLME, microextração líquido-líquido dispersiva com solvente de baixa densidade, do inglês *Low-density extraction solvent-based solvent terminated dispersive liquid-liquid microextraction*

TC, temperatura controlada

TIC, Cromatograma de Íon Total, do inglês *Total Ion Chromatogram*

t_R , tempo de retenção

TTAB, Tetradecil trimetil amônio brometo, do inglês *Tetradecyl Trimethyl Ammonium Bromide*

UA, assistida por ultrassom, do inglês *ultrasound-assisted*

UHPLC, Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência, do inglês *Ultra High Performance Liquid Chromatography*

UNESCO, Organização das Nações Unidas para a Educação, a Ciência e a Cultura, do inglês *United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization*

USAEME, microextração assistida por ultrassom com emulsificação auxiliada por surfactante, do inglês *ultrasound-assisted surfactant-enhanced emulsification microextraction*

USAEME-SFO, microextração por emulsificação assistida por ultrassom baseada na solidificação da gota orgânica flutuante, do inglês *ultrasonication assisted emulsification microextraction technique based on solidification of floating organic droplet*

USA-IL-DLLME, microextração extração líquido-líquido dispersiva com líquido iônico assistida por ultrassom, do inglês *microextraction dispersive liquid-liquid extraction with ionic liquid assisted by ultrasound*

VWD, detector com comprimento de onda variável, do inglês *variable wavelength detector*

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	25
2. HIPÓTESE.....	30
3. OBJETIVOS.....	30
4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	31
4.1. Contaminação dos recursos hídricos por agrotóxicos e PPCPs	31
4.2. O processo analítico e o preparo de amostras.....	32
4.3. Microextração Líquido-Líquido Dispersiva	34
4.3.1. Teoria e Fundamentos da DLLME	34
4.3.2. Solventes extratores.....	39
4.3.3. Solventes dispersores	40
4.4. Microextração Líquido-Líquido Dispersiva com Solidificação da Gota Orgânica Flutuante –DLLME- SFO	41
4.5. Microextração líquido-líquido dispersiva com líquido iônico (IL-DLLME)	47
4.5.1. Líquidos iônicos	52
4.5.2. IL-DLLME Convencional	56
4.5.3. Modificações da IL-DLLME	57
4.5.3.1. IL – DLLME com temperatura controlada.....	57
4.5.3.2. IL-DLLME assistida por ultra-som, micro-ondas ou vórtex.....	60
5. MATERIAIS E MÉTODOS	63
5.1. Instrumentação	63
5.2. Reagentes, solventes e materiais	64
5.3. Preparo das soluções analíticas	65
5.4. Limpeza da vidraria	65
5.5. Seleção dos analitos para o estudo	66
5.6. Amostras de água	69

5.7.	Avaliação do sistema cromatográfico LC-MS/MS para determinação de agrotóxicos e PPCPs em amostras de água	72
5.7.1.	Preparo da fase móvel	73
5.7.2.	Escolha da composição e vazão da fase móvel e modo de eluição ...	73
5.7.3.	Condições do espectrômetro de massas	73
5.8.	Avaliação da técnica de DLLME-SFO para extração de agrotóxicos e PPCPs em amostras de água	74
5.8.1.	Seleção do solvente extrator e dispersor	75
5.8.2.	Escolha do volume de solvente extrator.....	76
5.8.3.	Escolha do volume de solvente dispersor	76
5.8.4.	Efeito do pH	76
5.8.5.	Adição de sal.....	77
5.9.	Avaliação da técnica de IL-DLLME para extração de agrotóxicos e PPCPs em amostras de água	77
5.9.1.	Seleção do solvente extrator e dispersor	77
5.9.2.	Escolha do volume de solvente extrator.....	77
5.9.3.	Escolha do volume de solvente dispersor	78
5.9.4.	Efeito do pH	78
5.9.5.	Adição de sal.....	78
5.10.	Validação dos métodos	78
5.11.	Limite de Detecção e Quantificação.....	79
5.12.	Curva analítica, curva trabalho e linearidade	79
5.13.	Exatidão	80
5.14.	Precisão	81
5.15.	Efeito Matriz (EM).....	81
5.16.	Quantificação das amostras.....	83
5.17.	Tratamento estatístico dos dados	83
6.	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	84

6.1.	Avaliação das melhores condições de detecção no espectrômetro de massas.....	84
6.2.	Condições do sistema cromatográfico LC-MS/MS para determinação de agrotóxicos e PPCPs em amostras de água	86
6.3.	DLLME-SFO.....	88
6.3.1.	Escolha dos solventes extratores e dispersores	88
6.3.2.	Escolha do volume de solvente extrator.....	94
6.3.2.1.	Escolha do volume de solvente dispersor	99
6.3.3.	Efeito do pH	104
6.3.4.	Adição de sal.....	109
6.4.	Procedimento experimental desenvolvido para a extração dos agrotóxicos e PPCPS por DLLME-SFO	113
6.4.1.	Validação do método empregando DLLME-SFO e LC-MS/MS.....	113
6.4.1.1.	Limite de detecção e quantificação	113
6.4.1.2.	Curva analítica e linearidade	116
6.4.1.3.	Exatidão e precisão.....	120
6.4.1.4.	Efeito matriz	126
6.4.1.5.	Aplicabilidade	128
6.5.	Comparação da DLLME-SFO proposta com outros métodos empregados para extração de agrotóxicos e PPCPs de amostras de água com determinação por LC-MS/MS	130
6.6.	IL - DLLME	133
6.6.1.	Escolha dos solventes extratores e dispersores	133
6.6.2.	Escolha do volume de solvente extrator.....	138
6.6.3.	Escolha do volume de solvente dispersor	142
6.6.4.	Efeito do pH	146
6.6.5.	Adição de sal.....	149
6.7.	Procedimento experimental desenvolvido para a extração dos agrotóxicos e PPCPS por IL-DLLME	152

6.7.1. Validação do método empregando IL-DLLME e LC-MS/MS	153
6.7.1.1. Limite de detecção e quantificação	153
6.7.1.2. Curva analítica e linearidade	156
6.7.1.3. Exatidão e precisão	161
6.7.1.4. Efeito matriz	165
6.7.1.5. Aplicabilidade	167
6.8. Comparação da IL-DLLME proposta com outros métodos empregados para extração de agrotóxicos e PPCPs de amostras de água com determinação por LC-MS/MS.....	167
6.9. Comparação entre os métodos da DLLME-SFO e IL- DLLME.....	169
6.10. Comparação das técnicas propostas com o método de referência para extração de analitos orgânicos de amostra de água	169
7. CONCLUSÕES	174
8. TRATAMENTO DOS RESÍDUOS GERADOS	175
9. SUGESTÃO PARA TRABALHOS FUTUROS.....	176
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	177
PRODUÇÃO CIENTÍFICA NO PERÍODO DE DOUTORADO.....	196
EXPERIÊNCIAS EM OUTROS PAÍSES	199
ANEXO 1.....	201

1. INTRODUÇÃO

A qualidade da água está estreitamente relacionada com a saúde humana, sendo vital tanto para a manutenção da vida quanto para segurança alimentar e integridade ambiental. Apesar de sua importância vital, a Organização das Nações Unidas (ONU) alerta que 783 milhões de pessoas em todo o mundo ainda não têm acesso à água potável, conseqüentemente acarretando a morte de milhões de pessoas no mundo por ano em virtude de doenças transmitidas pela água (WHO, 2011).

Dentre os diferentes grupos de contaminantes que têm sido investigadas em águas, estão os agrotóxicos e os fármacos e produtos de cuidado pessoal (PPCPs, do inglês *pharmaceutical and personal care products*).

Os agrotóxicos são compostos sintéticos com atividade biocida que incluem um grande grupo de compostos orgânicos pertencentes a famílias químicas diferentes, sendo utilizados para controlar ervas daninhas, fungos e insetos com o papel muito importante de aumentar a produtividade agrícola (FARAJZADEH *et al.*, 2011; MASIÁ *et al.*, 2015). No entanto, eles podem apresentar riscos para o meio ambiente e seres humanos, devido à sua estabilidade, persistência e toxicidade (MASIÁ *et al.*, 2015). O Brasil destaca-se no cenário mundial como o maior consumidor de agrotóxicos desde o ano de 2008, respondendo, na América Latina, por 86% dos produtos (IBGE, 2012).

Além dos agrotóxicos, nos últimos anos, uma nova classe de contaminantes tem alertado o interesse da comunidade científica, os PPCPs são conhecidos como “compostos orgânicos emergentes”.

PPCPs incluem um conjunto diversificado de substâncias químicas, incluindo os medicamentos veterinários, drogas terapêuticas, desinfetantes, fragrâncias e conservantes utilizados em produtos de cuidados pessoais como, por exemplo, loções, protetores solares, creme dental, sabonetes entre outros utilizados para melhorar a qualidade de vida (BU *et al.*, 2013). Devido ao seu grande consumo, os PPCPs são introduzidos no meio ambiente diretamente ou indiretamente através da atividade antrópica, como descarga de esgotos e criação de animais. Estas fontes, resultam na presença destes contaminantes em águas superficiais e subterrâneas em níveis de concentração de $\mu\text{g L}^{-1}$ a ng

L⁻¹. Estudos evidenciam que a exposição contínua a certos PPCPs podem causar efeitos indesejáveis para os seres humanos e para o ecossistema. Assim, a presença desses contaminantes em água pode representar uma ameaça para os seres vivos devido ao conhecimento insuficiente em termos de toxicidade, impactos e comportamento dos PPCPs no meio ambiente (SUI *et al.*, 2015).

A determinação dos PPCPs em água é mais recente que a de agrotóxicos. Em 1970, um dos primeiros estudos foi publicado, e a presença de fármacos foi detectada em águas residuais nos Estados Unidos (TABAK *et al.*, 1970). Desde meados de 1990, estudos relacionados à ocorrência, efeitos e riscos de PPCPs no ambiente tem aumentado, principalmente devido aos avanços nas instrumentações analíticas (BU *et al.*, 2013). Estudos indicam a presença de PPCPs em peixes (CHEN *et al.*, 2015), fígado e rim de aves que se alimentam de peixes (TANOUE *et al.*, 2014), lodo de estações de tratamento de efluentes (YU *et al.*, 2012), lodos de estações de tratamento de água (CERQUEIRA *et al.*, 2014), solos, sedimentos (KUMIRSKA *et al.*, 2015; WANG *et al.*, 2015) e águas de superfície (MARUBE *et al.*, 2015; CALDAS *et al.*, 2016).

Determinar a qualidade da água é uma prioridade para a saúde humana. Entretanto, devido às baixas concentrações e a complexidade da amostra em que os agrotóxicos e PPCPs se encontram é necessário o uso de técnicas de extração e pré-concentração para a sua detecção.

O preparo da amostra é um dos passos mais importantes no processo analítico. Técnicas de extração como a extração líquido-líquido (LLE, do inglês *liquid-liquid extraction*) e extração por Soxhlet são procedimentos clássicos que foram amplamente utilizados para pré-concentração e extração de compostos orgânicos em amostras ambientais; no entanto, estas técnicas são trabalhosas e exigem grandes quantidades de solventes orgânicos (ALBERO *et al.*, 2015). Uma das técnicas que substituiu em grande maioria a utilização dessas técnicas clássicas foi a extração em fase sólida (SPE, do inglês *solid-phase extraction*)(HERRERO-LATORRE *et al.*, 2015).

A SPE se tornou mais popular do que LLE para pré-concentração e extração dos analitos na matriz, devido à sua simplicidade e economia em

termos de tempo e de solvente. A SPE ganhou ampla aceitação por causa das desvantagens inerentes da LLE como incapacidade para extrair compostos polares, sendo uma técnica trabalhosa e demorada, tendenciosa para formação de emulsões e a necessidade de evaporação de grandes volumes de solventes (PŁOTKA-WASYLKA *et al.*, 2015). Entretanto, os métodos convencionais vêm sendo aprimorados na busca de métodos mais baratos, mais rápidos e que consumam menor quantidade de solvente. Nesse aspecto, novas técnicas têm sido desenvolvidas, como a microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME, do inglês *dispersive liquid-liquid microextraction*).

Introduzida em 2006, a DLLME baseia-se num sistema ternário em que uma mistura do solvente extrator (imiscível em água) e do dispersor (miscível em água e no solvente extrator) é injetada rapidamente na amostra aquosa o que proporciona uma grande área de contato entre a fase aquosa e o solvente extrator, resultando na formação de uma solução turva (RAHIMI-NASRABADI *et al.*, 2012; FARAJZADEH *et al.*, 2016). A DLLME apresenta muitas vantagens em relação aos métodos convencionais de extração tais como rapidez, baixo custo, simplicidade de operação e baixo consumo de solvente orgânico (BASHIRY *et al.*, 2016; FARAJZADEH *et al.*, 2016). A técnica tem sido aplicada na extração de compostos orgânicos como poliaminas (BASHIRY *et al.*, 2016), agrotóxicos (SEEBUNRUENG *et al.*, 2014; FARAJZADEH *et al.*, 2016), fármacos (GONZÁLEZ *et al.*, 2015; JOUYBAN *et al.*, 2015) e compostos inorgânicos (PEREIRA *et al.*, 2013; LIU *et al.*, 2015) de amostras de alimentos, águas, fluidos biológicos, entre outros.

Apesar da simplicidade de operação, rapidez e baixo consumo de solventes orgânicos, a principal desvantagem da DLLME é o uso de solventes clorados tais como clorobenzeno, clorofórmio e tetracloreto de carbono, que são tóxicos e prejudiciais ao meio ambiente (LEONG *et al.*, 2009; YOU *et al.*, 2013). Para superar estas limitações e com o avanço da técnica foram desenvolvidas modificações, na tentativa de tornar a técnica mais robusta e menos poluente, incluindo a utilização de banho de ultra-som (MARTÍN *et al.*, 2015), vórtex (GURE *et al.*, 2015) e os solventes de extração de baixa toxicidade intitulados amigos do meio ambiente ou verdes, tais como alcoóis e

líquidos iônicos (ZHAO *et al.*, 2011c; LIU *et al.*, 2012; TRUJILLO-RODRÍGUEZ *et al.*, 2013).

Entre as principais modificações desenvolvidas que eliminam o uso dos solventes clorados estão a microextração líquido-líquido dispersiva com a solidificação da gota orgânica flutuante (DLLME-SFO, do inglês *dispersive liquid-liquid microextraction with the solidification of floating organic droplet*) e a microextração líquido-líquido dispersiva com líquido iônico (IL-DLLME, do inglês *ionic liquid-dispersive liquid-liquid microextraction*).

A DLLME-SFO foi introduzida em 2007 por Yamini e colaboradores, e emprega o mesmo princípio de extração que a DLLME. A diferença é que a técnica permite o uso de um solvente menos denso que a água, de baixa toxicidade e que solidifica a temperaturas menores que 20 °C facilitando a retirada da gota orgânica (GHAMBARIAN *et al.*, 2013).

A IL-DLLME baseia-se na injeção da mistura do líquido iônico extrator e do solvente dispersor na amostra aquosa contendo os analitos, ocorrendo à formação da solução turva. Após a amostra é centrifugada e a gota do líquido iônico contendo os analitos é sedimentada no fundo do tubo. A técnica IL-DLLME é muito simples, pois não necessita de qualquer passo adicional, apenas a utilização de um solvente dispersor, sendo o metanol o mais utilizado (TRUJILLO-RODRÍGUEZ *et al.*, 2013).

Com relação a quantificação, ambas as técnicas apresentam compatibilidade com as técnicas de Cromatografia Gasosa (GC, do inglês *Gas Chromatography*) e de Cromatografia Líquida (LC, do inglês *Liquid Chromatography*). Para a detecção e quantificação simultânea de PPCPs e agrotóxicos, GC e LC têm sido as técnicas mais utilizadas, ambas acopladas com detectores por espectrometria de massas (MS, do inglês *Mass Spectrometry*).

No Brasil, a portaria nº 2914 de dezembro de 2011 estabelece os procedimentos e responsabilidades relativas ao controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e o seu padrão de potabilidade, incluindo as concentrações máximas de alguns agrotóxicos em águas para abastecimento público (IBGE, 2012). No Estado do Rio Grande do Sul, a Portaria Estadual 320/2014 contempla o monitoramento de resíduos de 46

agrotóxicos, além das substâncias que são monitoradas na Portaria MS nº 2914 (RS, 2014). Entretanto estas legislações não contemplam a maioria dos agrotóxicos utilizados atualmente.

Na Europa, a legislação estabelecida pela Comunidade Econômica Européia, determina limites máximos permitidos de agrotóxicos em água potável, sendo a concentração máxima permitida de $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$ para agrotóxicos individuais e $0,5 \mu\text{g L}^{-1}$ para a soma de agrotóxicos, incluindo produtos de transformação (EU, 1998).

Embora não exista limites residuais permitidos para PPCPs em amostras de água na legislação brasileira e internacional, esses compostos vêm sendo constantemente detectados em amostras de água. No entanto, pouco se sabe sobre a toxicidade e impactos dos PPCPs no ambiente (SUI *et al.*, 2015). Cabe salientar, que os riscos que esses compostos apresentam para o meio ambiente estão sendo cada vez mais discutidos pelos órgãos ambientais. Estas discussões estão baseadas em dados de projetos e publicações científicas, o que ressalta a necessidade da geração de dados, para dar subsídio para a criação de legislações e normas.

A extração simultânea de diferentes classes de analitos por DLLME, diferentemente da SPE, tem recebido pouca atenção, devido a algumas limitações que a técnica apresenta como é o caso dos solventes extratores empregados. Dessa forma, o desafio deste trabalho foi aprimorar e estudar as técnicas DLLME-SFO e IL-DLLME na busca de métodos miniaturizados, rápidos, menos agressivos ao ambiente e que possibilitem a extração de agrotóxicos e PPCPs, atingindo exatidão e precisão aceitáveis para poder ser empregada na rotina de um laboratório, colaborando assim com o desenvolvimento da Química Analítica, e proporcionando uma alternativa para as técnicas oficiais, amplamente empregadas.

Para estudo do método, foi levado em consideração que os analitos em estudo pertencem a diferentes classes químicas, e apresentam solubilidade e polaridade bastante distintas entre si. Com a desenvolvimento das técnicas propostas, foi possível à extração de 26 analitos na DLLME-SFO e 35 analitos na IL-DLLME, utilizando pequenos volumes de solventes extratores verdes.

2. HIPÓTESE

Comprovar que é possível utilizar técnicas de baixo custo e utilizando solventes menos tóxicos para a extração simultânea de agrotóxicos e PPCPs em amostras de água.

3. OBJETIVOS

O objetivo geral deste trabalho foi desenvolver e validar métodos para a determinação simultânea de resíduos de agrotóxicos, fármacos e produtos de cuidado pessoal em amostras de água de abastecimento público e de superfície empregando a DLLME-SFO, IL- DLLME e cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas em série, do inglês *liquid chromatography tandem mass spectrometry* (LC-MS/MS) dando ênfase as técnicas de preparo da amostra, visando métodos que empregassem solventes menos tóxicos e que gerassem menor exposição do analista. Para desenvolver e validar os métodos, foram propostos os seguintes objetivos específicos:

- ✓ Selecionar os analitos para estudo, considerando a diversidade de propriedades físico-químicas, as diferentes aplicações e a ocorrência em amostras ambientais;
- ✓ Avaliar o desempenho da DLLME-SFO e IL-DLLME quando aplicadas para a extração dos analitos pertencentes a diferentes classes;
- ✓ Avaliar as condições de extração da DLLME-SFO e IL-DLLME com enfoque no efeito de alguns parâmetros como o solvente extrator, solvente dispersor, pH e adição de sal;
- ✓ Validar os métodos, avaliando: curva analítica, linearidade, limites de quantificação e detecção, precisão, exatidão e efeito matriz;
- ✓ Traçar um comparativo entre os métodos DLLME-SFO e IL-DLLME
- ✓ Disponibilizar dados para subsidiar a tomada de decisão e a criação de legislação no Brasil;
- ✓ Aplicar o método validado para verificar a ocorrência dos analitos em amostras de águas de superfície.

4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

4.1. Contaminação dos recursos hídricos por agrotóxicos e PPCPs

Segundo dados da Unesco, mais de 70% da superfície do nosso planeta é coberta por água. Embora a água seja aparentemente abundante, a verdadeira questão é a quantidade de água doce disponível, pois 97,5% de toda a água na terra é água salgada e apenas 2,5% é de água doce. Entretanto, quase 70% da água doce é congelada nas calotas polares; a maior parte do restante está presente como umidade do solo, ou encontra-se em aquíferos subterrâneos profundos como águas subterrâneas, não acessíveis para o consumo (UNESCO, 2015).

A água tem sido afetada por diversos tipos de poluentes, tais como PPCPs e agrotóxicos. Segundo os dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), a utilização de agrotóxicos é a 2ª maior causa de contaminação dos rios no Brasil, perdendo apenas para o esgoto doméstico (IBGE, 2012).

Estes agrotóxicos são aplicados diretamente no solo ou pulverizados sobre a plantação, podendo ser transportados através do processo de lixiviação ou escoamento superficial, no entanto, o ambiente aquático é o principal escoadouro dos defensivos agrícolas (CABRERA *et al.*, 2008; BRITTO *et al.*, 2012; BORTOLOZO *et al.*, 2016).

Dependendo de suas características, os agrotóxicos podem permanecer em diferentes compartimentos ambientais, tais como atmosfera, solo, água de superfície e subterrânea. Através das suas propriedades físico-químicas, pode-se estimar seu comportamento no meio ambiente, desde a aplicação até o destino final, assim como as interações com o solo e o transporte, quando dissolvidos em água ou associados ao sedimento. Os compostos de alta solubilidade em água, baixo valor de coeficiente de partição com o carbono orgânico do solo (Koc) e elevado tempo de meia vida apresentam tendência de serem lixiviados para água (ANDREU *et al.*, 2004; CABRERA *et al.*, 2008).

Os PPCPs são classificados como contaminantes orgânicos emergentes e têm despertado a atenção dos pesquisadores devido à grande utilização desses compostos. Em razão do uso no cotidiano, essas substâncias são

continuamente introduzidas nos ambientes aquáticos, principalmente através da excreção humana (fármacos, hormônios e anticoncepcionais, produtos de cuidado pessoal) bem como pelo descarte de produtos não utilizados ou com prazo de validade vencido (GROS *et al.*, 2012).

4.2. O processo analítico e o preparo de amostras

A etapa do preparo de amostra tem um papel vital no processo analítico, seja para análise qualitativa ou quantitativa dos analitos. Os principais objetivos do preparo da amostra são, portanto, o enriquecimento e a extração dos analitos, remoção de interferentes da amostra e a transformação da estrutura dos analitos para uma melhor detectabilidade. Todas estas etapas auxiliam em resultados adequados em termos de precisão e detectabilidade do método analítico (XU *et al.*, 2016).

Entretanto, a etapa de preparo de amostra é responsável por dois terços do tempo total de análise e mais importante, sendo considerada como a principal fonte de erros e discrepâncias entre laboratórios. Em outras palavras, a seleção e a otimização adequada da etapa de preparo de amostra são aspectos fundamentais para o sucesso do método analítico podendo afetar significativamente a confiabilidade e precisão dos resultados finais (RAMOS, 2012).

Apesar de todos os avanços na instrumentação analítica, os quais proporcionam uma excelente detectabilidade e seletividade, ainda se faz necessário uma etapa de preparo de amostra antes de sua introdução no equipamento. Esta etapa que vem ganhando força para determinação de compostos em níveis traços em amostras ambientais. Os métodos de preparo de amostra que foram mais utilizados para amostras LLE e SPE (RAMOS, 2012; BOYACI *et al.*, 2015; FUMES *et al.*, 2015).

A LLE baseia-se em extrações exaustivas dos analitos com porções de solventes orgânicos. No entanto, esses procedimentos de extração são demorados e trabalhosos, acarretando em uma longa exposição do analista aos solventes orgânicos. Além disso, o risco de perda do analito ou de contaminação da amostra se torna mais suscetível devido às várias extrações sucessivas realizadas com as amostras. Ainda existe a tendência para

formação de emulsões; a necessidade de evaporar grandes volumes de solventes e a geração de resíduos de solventes orgânicos tóxicos e inflamáveis são outras desvantagens desta técnica (SPIETELUN *et al.*, 2014; PŁOTKA-WASYLKA *et al.*, 2015).

Na década de 70, a técnica SPE, uma versão miniaturizada da técnica clássica de LC, foi introduzida. A SPE representou um avanço considerável em relação às técnicas previamente utilizadas devido a utilização de uma menor quantidade de solvente orgânico. Por outro lado, estava longe de ser uma técnica "verde" devido às quantidades relativamente altas de solventes orgânicos ainda utilizados e a necessidade do cartucho (FUMES *et al.*, 2015).

Para contornar esses inconvenientes, novas técnicas de microextração vêm sendo desenvolvidas como alternativas aos métodos clássicos de extração. Dentre elas, a microextração em fase líquida (LPME, do inglês *liquid phase microextracton*) (FUMES *et al.*, 2015; LI *et al.*, 2016). As técnicas de microextração visam reduzir o volume do solvente orgânico, diminuir a geração de resíduos e substituir solventes tóxicos por solventes verdes. Entre estes pode-se citar os líquidos iônicos, fluidos supercríticos, soluções tensoativas, e solventes supramoleculares, diminuindo assim os efeitos negativos para o meio ambiente e para a saúde do analista (SPIETELUN *et al.*, 2014; ARMENTA *et al.*, 2015).

Normalmente na LPME, a extração ocorre com alguns microlitros do solvente extrator imiscível na amostra aquosa (fase doadora) que contém os analitos. A LPME pode ser classificada em três principais categorias: microextração em gota suspensa (SDME, do inglês *single drop microextraction*), microextração de fase líquida com fibras ocas (HF-LPME, do inglês *hollow fiber liquid phase microextraction*) e a DLLME (YAN *et al.*, 2014).

As técnicas de microextração em fase líquida surgiram em 1996 com a SDME que se baseia na extração dos analitos presentes na amostra aquosa através de um solvente orgânico suspenso na ponta de uma microsseringa (OCAÑA-GONZÁLEZ *et al.*, 2016). Apesar de ser uma técnica simples e de utilizar baixo volume de solventes, possui algumas desvantagens como a instabilidade da gota na ponta da agulha, evaporação do solvente orgânico e o elevado tempo de extração, uma vez que a área superficial de contato com a

amostra é pequena, o que necessita um longo tempo de extração (KOKOSA, 2013).

HF-LPME baseia-se na utilização de uma fibra oca porosa impregnada com um pequeno volume de solvente extrator em seu interior (fase receptora), a qual é submersa na amostra aquosa (fase doadora). Embora HF-LPME seja uma técnica simples que utiliza um pequeno volume de solvente orgânico, apresenta algumas desvantagens tais como longo tempo de extração, adsorção de substâncias hidrofóbicas e a formação de bolhas de ar durante a extração devido a forte agitação, o que pode comprometer a reprodutibilidade do método (OCAÑA-GONZÁLEZ *et al.*, 2016).

Na busca de técnicas de microextração mais rápidas, a técnica de DLLME vem sendo estudada e empregada para extração de agrotóxicos e PPCPs de amostras de águas.

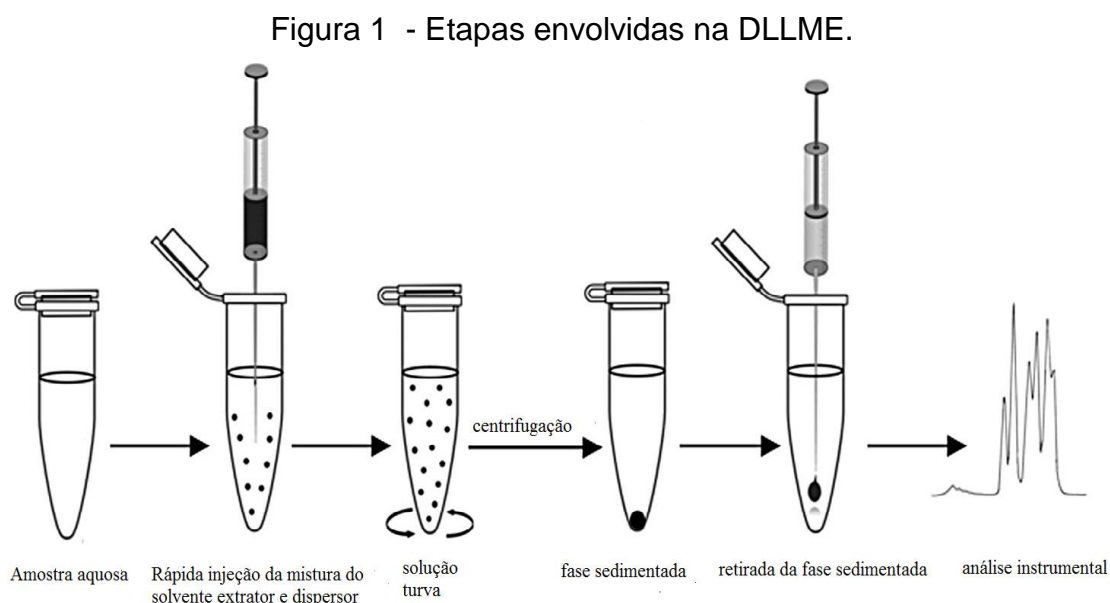
4.3. Microextração Líquido-Líquido Dispersiva

A DLLME foi introduzida pela primeira vez no ano de 2006 por Assadi e colaboradores (REZAEI *et al.*, 2006). Desde a sua descoberta até hoje ela vem ganhando muita atenção por parte dos pesquisadores e tem sido amplamente utilizada para a extração de diferentes tipos de analitos a partir de diferentes matrizes, tais como água, tecidos, fluidos biológicos, matrizes alimentares entre outros (JAIN *et al.*, 2016).

4.3.1. Teoria e Fundamentos da DLLME

A DLLME convencional baseia-se num sistema ternário de solventes, incluindo solvente dispersor, solvente de extrator e a amostra aquosa contendo os analitos. A mistura dos dois solventes é injetada rapidamente na amostra com auxílio de uma seringa. Após leve agitação, é formada uma solução turva composta por microgotas, estas consistem no solvente extrator enriquecido com os analitos. A área superficial entre a amostra aquosa e o solvente de extrator é infinitamente grande, de modo que a transferência de massa ocorra rapidamente e a extração independe do tempo. Após a centrifugação, ocorre a sedimentação das microgotas, formando uma fase sedimentada que é coletada

com o auxílio de uma microseringa para posterior análise dos analitos (Figura 1) (YAN *et al.*, 2014; AHMAD *et al.*, 2015).



Fonte: adaptado de Ahmad e colaboradores (2015) (AHMAD *et al.*, 2015)

Na DLLME, vários fatores afetam a eficiência de extração, incluindo o tipo e volume do solvente extrator, o tipo e volume do solvente dispersor, pH da amostra, efeito da presença do sal, tempo de extração, tempo de centrifugação e o volume da amostra. Estes parâmetros necessitam ser otimizados para uma extração eficiente (AHMAD *et al.*, 2015).

A seleção do solvente extrator é o principal parâmetro no processo de DLLME. Este precisa apresentar vários requisitos: ser imiscível em água, apresentar afinidade com o analito, densidade maior que a água e um bom comportamento cromatográfico. Solventes como tetracloreto de carbono, dissulfeto de carbono, clorobenzeno, e tetracloroetileno foram os primeiros a serem testados como solventes extratores (REZAEI *et al.*, 2010; AHMAD *et al.*, 2015).

O solvente dispersor apresenta um papel importante na extração, pois tem a função de particionar uniformemente o solvente extrator na amostra aquosa. É necessário que ele seja miscível no solvente extrator e na fase

aquosa. Acetona, metanol e acetonitrila são usualmente empregados como solvente dispersor (AHMAD *et al.*, 2015).

A relação entre o volume do solvente extrator e dispersor deve ser levada em consideração. O volume da fase sedimentada é significativamente influenciada pelo volume de ambos (AHMAD *et al.*, 2015; VIÑAS *et al.*, 2015). O volume do solvente extrator afeta o fator de concentração. Aumentando o volume do solvente extrator à fase orgânica final obtida após a centrifugação é aumentada, resultando em um menor fator de concentração e conseqüentemente diminuindo o fator de enriquecimento (SARAJI *et al.*, 2014; VIÑAS *et al.*, 2015). Assim, o solvente extrator ideal deve garantir os seguintes requisitos: eficiência de extração, alto fator de concentração e um volume suficiente de fase sedimentada para análise.

A solução turva é formada pela mistura de água, solvente dispersor e solvente extrator, sendo esta afetada diretamente pelo volume do solvente dispersor e conseqüentemente afeta a eficiência da extração (AL-SAIDI *et al.*, 2014). Variações no volume de solvente dispersor afetam o volume de fase sedimentada, tornando-se necessário a modificação do volume de solvente extrator. Cabe ressaltar que a utilização de elevado volume de solvente dispersor aumenta a solubilidade dos analitos na fase aquosa, diminuindo a eficiência da extração (MARUBE *et al.*, 2015).

Na DLLME, o tempo de extração é definido como o intervalo entre a injeção da mistura dos solventes dispersor e extrator, e a centrifugação. Os resultados obtidos em muitos trabalhos mostram que a extração é realizada em um tempo muito curto devido a grande área superficial entre o solvente extrator e a fase aquosa, assim, a transferência dos analitos para a fase aquosa é rápida. Subseqüentemente, o estágio de equilíbrio é atingido rapidamente (REZAEI *et al.*, 2010).

Outros parâmetros como pH e concentração de sal na amostra também devem ser otimizados. O pH desempenha um papel importante na extração de compostos ionizáveis, sendo otimizado em função da acidez ou basicidade dos compostos (CALDAS *et al.*, 2011; VIÑAS *et al.*, 2015).

A eficiência de extração na DLLME ainda pode ser alterada pela adição de sal. A solubilidade dos analitos na fase aquosa pode diminuir com o

aumento da força iônica devido às moléculas de água hidratarem os íons adicionados. Assim, os analitos que apresentam mais afinidade com a água, ficam livres facilitando sua partição para o solvente orgânico, esse efeito é chamado de *salting out* (OLIVEIRA *et al.*, 2008; AL-SAIDI *et al.*, 2014). Em alguns trabalhos, a adição de sal pode ocasionar a diminuição na eficiência da extração. Alguns autores explicam que os íons do sal adicionados podem formar uma camada, reduzindo a transferência do analito para a fase orgânica (AL-SAIDI *et al.*, 2014).

Na DLLME, o fator de pré-concentração (PF) é expresso pela razão entre a concentração do analito na fase sedimentada (C_{sed}) e a concentração inicial (C_{aq}) do analito na amostra aquosa (equação 1):

$$PF = \frac{C_{sed}}{C_{aq}} \quad (1)$$

A recuperação (R) é definida como na equação 2:

$$R = \frac{C_{sed} \times V_{sed}}{C_{aq} \times V_{aq}} \times 100 \quad (2)$$

A recuperação relativa (RR) é definida como na equação 3:

$$RR = \frac{C_{encontrada} - C_{real}}{C_{adicionada}} \times 100 \quad (3)$$

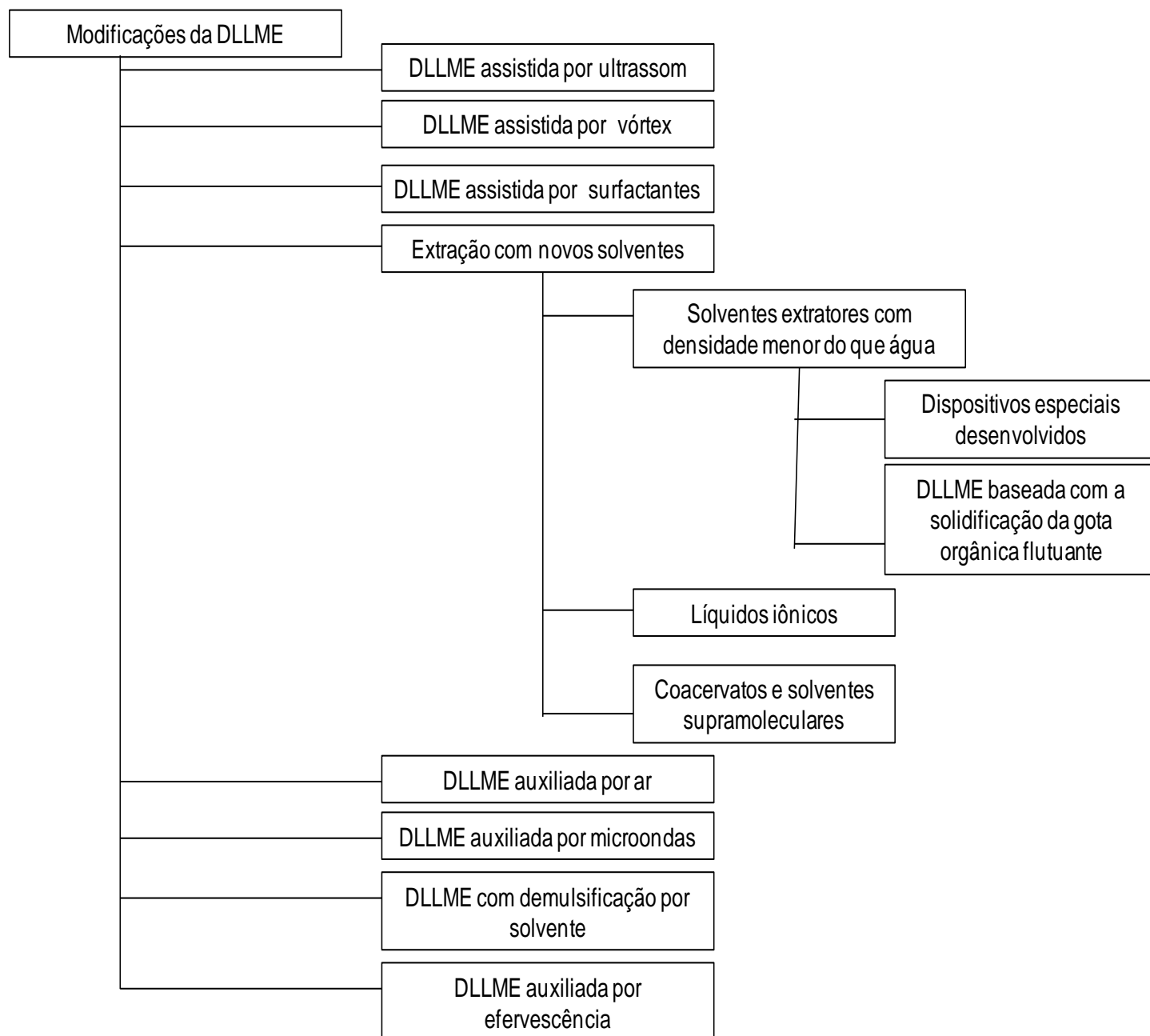
Onde C_{sed} é a concentração do analito na fase sedimentada e C_{aq} é a concentração do analito na fase aquosa; e, V_{sed} e V_{aq} são os volumes da fase sedimentada e aquosa, respectivamente (REZAEI *et al.*, 2010). Na equação 3, é apresentada a recuperação relativa onde $C_{encontrada}$ é a concentração total do analito após a extração, C_{real} é a concentração inicial da amostra real (branco) e $C_{adicionada}$ é a concentração na qual a amostra foi fortificada.

A DLLME apresenta diversas vantagens, dentre elas: rapidez, simplicidade, baixo volume de solvente orgânico (μL), grande área de contato entre o solvente extrator e a amostra aquosa, possibilidade de acoplamento com outras técnicas de extração e um alto fator de enriquecimento devido à elevada relação entre o volume de amostra aquosa e o volume do solvente

extrator (YAN *et al.*, 2013; AHMAD *et al.*, 2015). Consequentemente, vem sendo uma das técnicas mais utilizada para determinação de contaminantes orgânicos e inorgânicos em diferentes matrizes (AHMAD *et al.*, 2015) .

A DLLME como proposta inicialmente, apresenta algumas limitações principalmente relacionadas com os solventes extratores e dispersores empregados. Para superar estas desvantagens, algumas modificações no método têm sido realizadas, incluindo banho de ultra-som, vórtice, extrações sem a necessidade de solvente dispersor e a utilização de solventes de extração menos tóxicos, tais como soluções surfactantes, líquidos iônicos e álcoois, se tornando um tópico de interesse na química analítica (SPIETELUN *et al.*, 2014). A Figura 2, apresenta as principais modificações da DLLME baseadas no modelo original.

Figura 2 - Principais Modificações da DLLME.



Fonte: adaptado de Spietelun e colaboradores (2014) (SPIETELUN *et al.*, 2014)

4.3.2. Solventes extratores

Em sua forma original, a DLLME utilizava solventes de extração clorados, em virtude da imiscibilidade e elevada densidade, facilitando a

separação das fases após a etapa de centrifugação (SPIETELUN *et al.*, 2014). Entre os solventes clorados mais utilizados podemos citar clorobenzeno, tetracloreto de carbono, clorofórmio, diclorometano e tetracloroetileno (LEONG *et al.*, 2014; SARAJI *et al.*, 2014) que são altamente tóxicos. Porém, com a finalidade de diminuir a toxicidade dos resíduos gerados na técnica, assim como a exposição do analista a solventes tóxicos, outras alternativas de solventes começaram a ser empregadas, como o uso de líquidos iônicos e alcoóis (TRUJILLO-RODRÍGUEZ *et al.*, 2013; SPIETELUN *et al.*, 2014).

Os líquidos iônicos (ILs) têm sido empregados na DLLME como solventes extratores e dispersores. ILs são definidos como sais orgânicos que são líquidos a baixas temperaturas (<100 °C). Os ILs apresentam algumas propriedades físico-químicas peculiares, como pressão de vapor negligenciável, boa estabilidade térmica e química e boa solubilidade para compostos orgânicos e inorgânicos. Nos últimos anos, eles têm sido amplamente utilizados como solventes extratores verdes em DLLME substituindo os solventes clorados (FAN *et al.*, 2014).

Os alcoóis que apresentam densidades menores que a água como 1-undecanol, 1-dodecanol, 2- dodecanol, n-hexadecano, 1-bromohexadecano são comumente utilizados como solventes extratores na DLLME-SFO. Estes alcoóis apresentam algumas características como menor toxicidade quando comparados com solventes clorados e baixa volatilidade. Uma das principais vantagens desses solventes é a solidificação a baixas temperaturas, o que facilita a remoção do solvente orgânico (GHAMBARIAN *et al.*, 2013).

O volume do solvente extrator deve ser suficiente para extrair o analito e obter um alto fator de enriquecimento, utilizando uma menor quantidade de solventes tóxicos. Os volumes utilizados para extração de agrotóxicos e PPCPs variam de 8 a 685 µL (CALDAS *et al.*, 2011; HERRERA-HERRERA *et al.*, 2013).

4.3.3. Solventes dispersores

A seleção do solvente dispersor é baseado na miscibilidade no solvente extrator e na fase aquosa, o que limita sua variação. Acetona, metanol, e acetonitrila são geralmente utilizados como solventes dispersores (SARAJI *et*

al., 2014). Além, destes 2-propanol, álcool isopropílico, etanol, tetrahidrofurano, líquidos iônicos e surfactantes são outros solventes que têm sido empregados, porém com menor frequência.

Na DLLME, a variação no volume do solvente dispersor influencia no volume da fase sedimentada. Os volumes variam entre 10 a 2000 μL (CHENG *et al.*, 2011a; LIMA *et al.*, 2013).

4.4. Microextração Líquido-Líquido Dispersiva com Solidificação da Gota Orgânica Flutuante –DLLME- SFO

A DLLME-SFO foi introduzida em 2007 por Khalili-Zanjani e colaboradores na determinação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) em amostras de água. Neste método, é utilizado como solvente extrator, um álcool de cadeia longa que apresenta densidade menor que a água, imiscibilidade com a água, baixa toxicidade, baixa volatilidade e ponto de fusão perto da temperatura ambiente (10 °C – 30 °C), tendo a capacidade de se solidificar a baixas temperaturas. Uma das grandes vantagens da solidificação do solvente orgânico é a remoção da gota orgânica flutuante, e os solventes extratores empregados que são considerados amigos do meio ambiente (GHAMBARIAN *et al.*, 2013; OCAÑA-GONZÁLEZ *et al.*, 2016).

O procedimento de extração é o mesmo da DLLME convencional, onde uma mistura do solvente extrator, um álcool de baixa toxicidade, e o solvente dispersor são injetados rapidamente na amostra aquosa formando uma solução turva. Após a centrifugação, o tubo é transferido para a refrigeração dentro de um banho de gelo e o solvente extrator solidifica facilitando a remoção da gota orgânica que é retirada com o auxílio de uma espátula. O solvente solidificado funde a temperatura ambiente e é colocado em um frasco para a análise. As desvantagens deste método são o limitado número de solventes extratores com baixo ponto de fusão e a necessidade de um ambiente climatizado (LEONG *et al.*, 2014; SPIETELUN *et al.*, 2014). A Figura 3 apresenta as etapas envolvidas na extração.

No procedimento da DLLME-SFO, os fatores que influenciam a eficiência da extração são: o tipo de solvente extrator, tipo de solvente dispersor, volume de solvente extrator, volume de solvente dispersor, pH da amostra e força iônica.

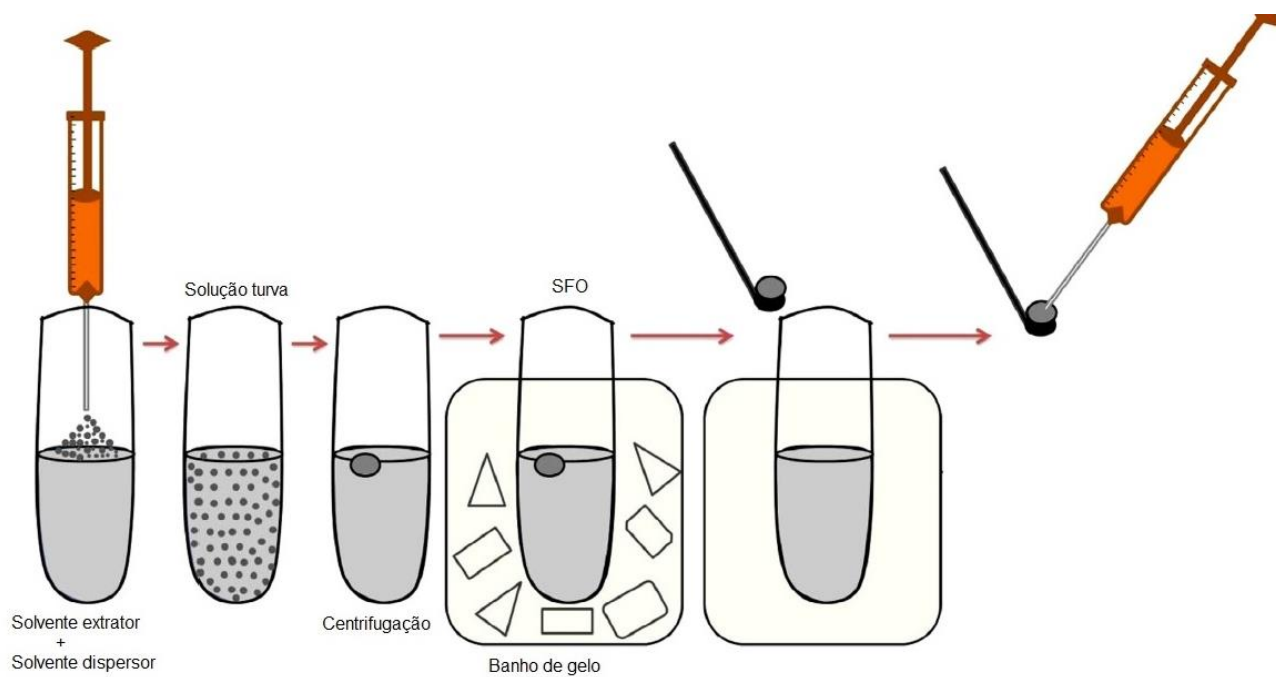
A seleção do solvente extrator é o parâmetro mais importante no processo de otimização da DLLME-SFO. Este solvente deve satisfazer os seguintes requisitos: ser imiscível em água, ter baixa volatilidade, ter menor densidade do que a água, capacidade de solidificar a baixas temperaturas, ponto de fusão próximo a temperatura ambiente e capacidade de extrair os analitos. Dentre estas características, destacam-se o 1-undecanol, 1-dodecanol, 2-dodecanol, n-hexadecano, 1-bromohexadecano, 1,10-diclorodecano, 1-clorooctadecano (KOCÚROVÁ *et al.*, 2012; PÉREZ-OUTEIRAL *et al.*, 2016). Como pode-se observar na Tabela 1, os solventes extratores mais utilizados são o 1-undecanol e o 1-dodecanol.

Para a escolha do solvente dispersor, a principal característica a ser considerada é a sua miscibilidade na fase orgânica (solvente extrator) e na fase aquosa. Este solvente deve auxiliar na dispersão das gotas do solvente extrator na fase aquosa. A necessidade dessas características, no entanto, limita ao uso de metanol, acetona e acetonitrila como solventes dispersores (OCAÑA-GONZÁLEZ *et al.*, 2016; PÉREZ-OUTEIRAL *et al.*, 2016). A Tabela 1, demonstra que o metanol é o solvente dispersor mais utilizado na DLLME-SFO.

Com relação aos parâmetros volume de solvente extrator, volume de solvente dispersor, força iônica e pH, os efeitos causados por estas variáveis na eficiência da extração dos analitos são os mesmos apresentados pelo método da DLLME e por isso não serão descritos novamente (item 3.3.1).

A maior parte dos métodos relatados empregando DLLME-SFO, estão limitados apenas a um grupo de compostos com polaridades semelhantes ou estruturas similares. Assim este é o primeiro trabalho a ser publicado na literatura que faz uso da DLLME-SFO para a extração simultânea de agrotóxicos e PPCPs. Uma descrição mais detalhada dos trabalhos publicados utilizando DLLME-SFO para amostra aquosa é apresentada na Tabela 1.

Figura 3 - Etapas envolvidas na DLLME-SFO.



Fonte: adaptado de Jain e Singh (2016) (JAIN *et al.*, 2016)

Tabela 1 - Trabalhos empregando DLLME-SFO para extração de compostos orgânicos em amostras ambientais de águas

Sigla	Analitos	Matriz Volume de amostra	Solvente Dispensor (volume)	Solvente Extrator (volume)	Centrifugação	Técnica de determinação	Referência
SFDME ^a	12 hidrocarbonetos aromáticos policíclicos	água 20 mL	Não utiliza	1-undecanol 10 µL	Não utiliza	GC/FID ^b	(ZANJANI <i>et al.</i> , 2007)
DLLME-SFO ^c	5 agrotóxicos halogenados	água 5 mL	Acetona 500 µL	2-dodecanol µL	4 min 6000 rpm	GC-MS ^d GC- ECD ^e	(LEONG <i>et al.</i> , 2008)
DLLME-SFO	5 hidrocarbonetos aromáticos policíclicos	água 10 mL	Metanol 200 µL	1-dodecanol 100 µL	2 min 4000 rpm	HPLC – VWD ^f	(XU <i>et al.</i> , 2009)
DLLME-SFO	6 agrotóxicos organoclorados	água 5 mL	Acetonitrila 200 µL	Hexadecano 10 µL	3 min 5000 rpm	GC-ECD	(LEONG <i>et al.</i> , 2009)
DLLME-SFO	4 Hidrocarbonetos aromáticos	Água 8 mL	Acetona 480 µL	1-undodecanol 20 µL	2 min 5000 rpm	GC-MS	(VICKACKAITE <i>et al.</i> , 2009)
DLLME-SFO	7 bifenilos policlorados	água 5 mL	Acetonitrila 1000 µL	1-undecanol 8 µL	2 min 3500 rpm	GC-ECD	(DAI <i>et al.</i> , 2010)
DLLME-SFO	4 agrotóxicos organofosforados	Água 20 mL	Metanol 200 µL	1-dodecanol 15 µL	3 min 3500 rpm	HPLC-DAD ^g	(WU <i>et al.</i> , 2010)
DLLME-SFO	4 hormônios esteroides	Água 5 mL	Metanol 200 µL	1-undecanol 10 µL	3 min 4500 rpm	UPLC ^h -DAD	(CHANG <i>et al.</i> , 2010)

DLLME-SFO	Triclosan e 2,4 diclofenol	5 mL água	Acetonitrila 300 µL	1- Dodecanol 12 µL	4 min 3000 rpm	HPLC-UV ⁱ e LC-MS/MS ^j	(ZHENG <i>et al.</i> , 2011)
DLLME-SFO	4 aminas alifáticas	5 ml Água	1000 µL acetonitrila	20 µL 1-undecanol	3 min 4000 rpm	HPLC-DAD	(KAMAREI, EBRAHIMZADE H e ASGHARINEZH AD, 2011)
USAEME-SFO	6 ésteres de ftalato	10 mL água	Utiliza ultrassom	30 µL 1-undecanol	5 min 3500 rpm	HPLC-DAD	(KAMAREI, EBRAHIMZADE H e YAMINI, 2011)
DLLME-SFO	4 Agrotóxicos triazoles	10 mL água	200 µL metanol	12 µL 1-dodecanol	3 min 3500 rpm	HPLC-DAD	(WANG, C. <i>et al.</i> , 2011)
DLLME-SFO	Dietofencarbe e pirimetanil	5 mL água	500 µL metanol	20 µL 1-dodecanol	2 min 4000 rpm	HPLC – VWD	(CHENG <i>et al.</i> , 2011b)
DLLME-SFO	4 Agrotóxicos triazinas	5mL água	100 µL acetonitrila	10 µL 1-undodecanol	3 min 4000 rpm	GC-MS	(SANAGI <i>et al.</i> , 2012)
DLLME-SFO	13 anilinas	5 mL água	500 µL etanol	15 µL ciclohexano	3 min 5000 rpm	GC-MS	(DIAO <i>et al.</i> , 2012)
USAEME-SFO	3 anilinas cloradas	10 mL água	Utiliza ultrassom	60 µL 1-dodecanol	6 min 4000 rpm	HPLC-UV	(RAMKUMAR <i>et al.</i> , 2012)
DLLME-SFO	4 agrotóxicos	8 mL	200 µL	50 µL 1-dodecanol	min 4000 rpm	HPLC-VWD	(YANG <i>et al.</i> , 2014)
DLLME-SFO	1 surfactante, 4 hormônios, 1 plastificante,3 conservantes,6	10 mL água	500 µL metanol	80 µL 1-undodecanol	5 min 4000 rpm	LC-MS/MS	(MARTÍN <i>et al.</i> , 2015)

compostos perfluoroalquiladas							
1 retardadores de chama bromados							
DLLME-SFO	2 nitrofenóis	5 mL água	500 µL metanol	40 µL 1-undecanol	5 min 4800 rpm	HLPC-VWD	(HASHEMI <i>et al.</i> , 2015)
DLLME-SFO	4 fármacos anti-inflamatórios	10 mL água	150 µL acetoneitrila	30 µL 1-undecanol	4 min 4500 rpm	HPLC-UV	(BELDEAN-GAL EA <i>et al.</i> , 2015)
DLLME-SFO	Fármacos, conservantes e agrotóxicos	10 mL água	500 µL metanol	100 µL 1-dodecanol	5 min 4000 rpm	LC-MS/MS	(MARUBE <i>et al.</i> , 2015)

^aSFDME, microextração em fase líquida baseada na solidificação da gota orgânica flutuante, do inglês *liquid-phase microextraction method based on solidification of floating organic droplet*; ^bGC-FID, cromatografia gasosa com detector por ionização em chama, do inglês *gas chromatography with flame ionization detector*; ^cDLLME –SFO, microextração líquido-líquido dispersiva baseado na solidificação da gota orgânica flutuante, do inglês *dispersive liquid-liquid microextraction based on solidification of a floating organic drop*; ^dGC-MS cromatografia gasosa com detector por espectrometria de massas, do inglês *gas chromatography with mass spectrometry detector*; ^eGC-ECD cromatografia gasosa com detector por captura de elétron, do inglês *gas chromatography with electron-capture detection detector*; ^fHPLC-VWD, cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por detector de comprimento de onda variável, do inglês *ultra-high-pressure liquid chromatography with variable wavelength detection*; ^gHPLC-DAD, cromatografia líquida de alta eficiência acoplada ao detector de arranjo de diodos, do inglês *high pressure liquid chromatography with diode array detector*; ^hcromatografia líquida de ultra performance, do inglês *ultra performance liquid chromatography*; ⁱUV detector ultravioleta; ^j LC-MS/MS, cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas em série, do inglês *liquid chromatography tandem mass spectrometry*

4.5. Microextração líquido-líquido dispersiva com líquido iônico (IL-DLLME)

A implementação de processos sem utilização de solventes orgânicos seria o ideal. Entretanto, eles são quase inevitáveis devido ao seu papel importante nas microextrações líquido-líquido. Porém, algumas estratégias para o desenvolvimento de solventes verdes têm sido propostas: a substituição dos solventes derivados do petróleo por outros obtidos a partir de recursos renováveis e a substituição de solventes tóxicos por solventes menos tóxicos para o meio ambiente e o analista (ESPINO *et al.*, 2016).

Dentre os novos solventes, pode-se destacar os ILs, pelo potencial como um solvente verde, por não serem inflamáveis, elevada estabilidade térmica, pressão de vapor desprezível, alta viscosidade, solubilidade moderada em compostos orgânicos, ajustável miscibilidade e polaridade, boa extratibilidade para diferentes compostos orgânicos e inorgânicos. Estas, características tornam os ILs um solventes potenciais nas microextrações (SUÁREZ *et al.*, 2016). Dentre os mais usados pode-se citar o hexafluorofosfato de 1-hexil-3-metilimidazólio [C₆MIM][PF₆] (LIU *et al.*, 2009) e o hexafluorofosfato de 1-octil-3-metilimidazólio [C₈MIM][PF₆] (VÁZQUEZ *et al.*, 2012).

A IL-DLLME foi proposta pela primeira vez em 2008 por (ZHOU *et al.*, 2008) e (BAGHDADI *et al.*, 2008) baseia-se na utilização dos ILs como solventes extratores com o objetivo de reduzir a utilização de solventes tóxicos e conseqüentemente diminuir os impactos no meio ambiente (OCAÑA-GONZÁLEZ *et al.*, 2016).

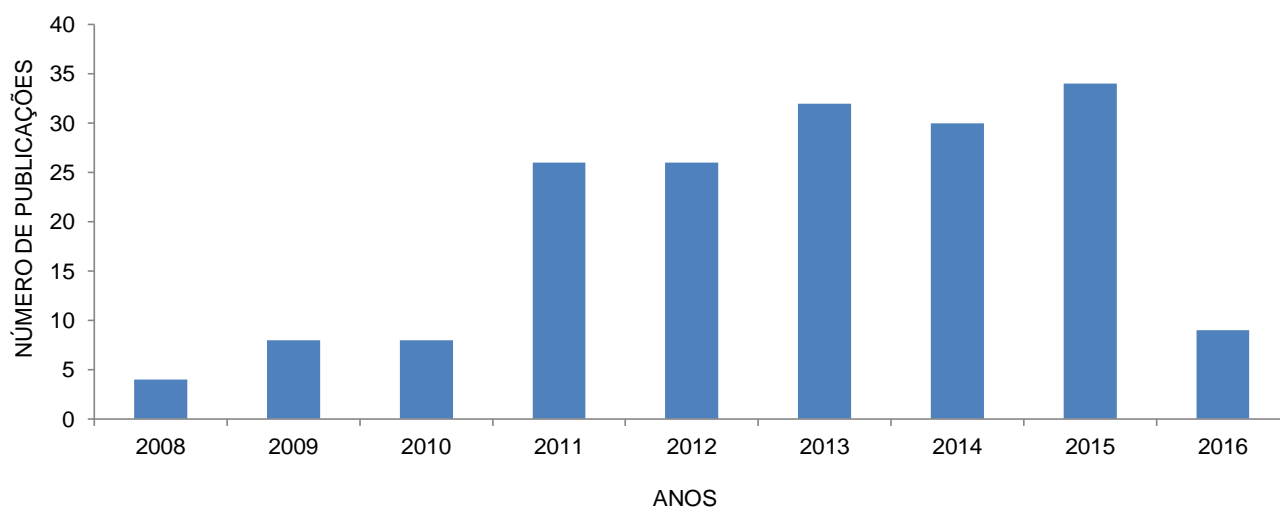
Zhou e colaboradores em 2008, propuseram a utilização do líquido iônico hexafluorofosfato 1-hexil-3-metilimidazólio como solvente extrator na DLLME para determinação de agrotóxicos organofosforados em amostras ambientais com aquecimento. A solução aquosa contendo os analitos e o IL foi aquecida, e após arrefecimento com água gelada, o aquecimento da solução evita a utilização do solvente dispersor (ZHOU *et al.*, 2008).

Baghdadi e Shemirani (2008) aplicaram microextração com ILs por agregação induzida a frio para a determinação de mercúrio em água, utilizando

1-hexil-3-metilimidazólio hexafluorofosfato e 1-hexil-3-metilimidazólio bis(trifluorometilsulfonil)imida como solventes extratores.

Desde a sua primeira aplicação como solvente extrator até o presente momento, é crescente o interesse pelos os ILs na etapa de preparo de amostra por IL-DLLME (Figura 4).

Figura 4 - Número de publicações usando as palavras-chave ionic liquid by dispersive liquid-liquid microextraction nos últimos oito anos.



Fonte: www.scopus.com; data da pesquisa 02.03.16.

Como pode-se observar na revisão da Tabela 2, os métodos relatados com IL-DLLME estão limitados apenas a um grupo de compostos com polaridades semelhantes ou estruturas similares, sendo este o primeiro trabalho a ser publicado na literatura que faz o uso da IL-DLLME para extração simultânea de agrotóxicos e PPCPs.

Tabela 2 - Trabalhos empregando IL-DLLME para extração de compostos orgânicos em amostras ambientais de água

SIGLA	ANALITOS	MATRIZ VOLUME DE AMOSTRA	SOLVENTE DISPERSOR	SOLVENTE EXTRATOR	CENTRIFUGAÇÃO	TÉCNICA DE DETERMINAÇÃO	REFERÊNCIAS
TC ^a - IL-DLLME	2 agrotóxicos organofosforados	Água 10 mL	aquecimento a 80 °C	[C ₆ MIM][PF ₆] ^b 50 µl	2 min 5000 rpm	HPLC-UV ^c	(ZHOU <i>et al.</i> , 2008)
TC-IL-DLLME	1 agrotóxico e 3 metabólitos	Água 10 mL	Utilizou aquecimento a 75 °C	[C ₆ MIM][PF ₆] 50 µL	15 min 4000 rpm	HPLC-UV	(BAI <i>et al.</i> , 2009)
IL-DLLME	4 agrotóxicos organofosforados	Água 5 mL	Metanol 1000 µL	[C ₈ MIM][PF ₆] ^d 35 µL	4 min 4000 rpm	HLPC-UV	(HE <i>et al.</i> , 2009)
IL-DLLME	18 HPAs	Água 10 mL	Acetona 1000 µL	[C ₈ MiM][PF ₆] 50 µL	5 min 4000 rpm	HPLC-FLD ^e	(PENA <i>et al.</i> , 2009)
IL-DLLME	4 agrotóxicos	Água 5 mL	Metanol 500 µL	[C ₆ MiM][PF ₆] 40 µL	10 min 4000 rpm	HPLC-DAD ^f	(LIU <i>et al.</i> , 2009)
USA ^g -IL-DLLME	4 aminas aromáticas	Água 10 mL	Utiliza ultrassom por 5 min	[C ₆ MiM][PF ₆] 60 µL	15 min 4000 rpm	HPLC-UV	(ZHOU <i>et al.</i> , 2009)
UA-IL-DLLME	4 agrotóxicos benzoiluricais	Água 10 mL	ultrassom 15 min, banho de gelo	[C ₆ MIM][PF ₆] 50 µl	10 min 4000 rpm	HPLC-UV	(ZHOU <i>et al.</i> , 2010)
IL-DLLME	17 Fármacos	Água 10 mL	Metanol 500 µL	BMIM-NTf ₂ ^h	5 min 3400 rpm	HPLC-UV	(YAO <i>et al.</i> , 2011)
IL-IL-DLLME	2 piretróides	Água 5 mL	[C ₄ MIM][BF ₄] ⁱ 300 µL	[C ₈ MIM][PF ₆] 750 µL	6 min 5000 rpm	HPLC-UV	(ZHAO <i>et al.</i> , 2011)
IL-USA-DLLME	4 filtros UV	Água 10 mL	Metanol 100 µL	([HMIM][FAP]) ^j 20 µL	5 min 4000 rpm	HPLC-UV	(ZHANG, Y. <i>et al.</i> , 2012)

SIGLA	ANALITOS	MATRIZ VOLUME DE AMOSTRA	SOLVENTE DISPERSOR	SOLVENTE EXTRATOR	CENTRIFUGAÇÃO	TÉCNICA DE DETERMINAÇÃO	REFERÊNCIAS
MR ¹ -IL-DLLME	5 agrotóxicos	Água 10 mL	Acetonitrila 300 µL	[C ₆ MIM][PF ₆] 70 µL	Vortex 2800 rpm por 90 s	HPLC-UV	(ZHANG, J. <i>et al.</i> , 2012)
UA-IL-DLLME	8 antibióticos	Água 10 mL	Metanol 400 µL	[C ₈ MIM][PF ₆] 50 µL	10 min 4000 rpm	HPLC-FD	(VÁZQUEZ <i>et al.</i> , 2012)
IL-DLLME- µ- SPE	5 antidepressivos	Água 5 mL	Metanol 200 µL temperatura controlada a 50 °C, para dispersar o IL	[HMIM][FAP] 20 µL	Depois da DLLME passa por uma micro-SPE	HPLC-UV	(GE <i>et al.</i> , 2013)
TC-IL-DLLME	4 filtros UV	Água 10 mL	Acetonitrila 500 µL	[HMIM][FAP] 20 µL	20 min 4000 rpm	HPLC-UV	(ZHANG, Y. <i>et al.</i> , 2013)
US-IL-DLLME	9 fármacos	Água 10 mL	Ultrasom 15 min temperatura controlada a 80°C	[C ₈ MIM][PF ₆] 70 µL	8 min 4000 rpm	LC-MS/MS ^m	(VÁZQUEZ <i>et al.</i> , 2013)
IL-USAEME ⁿ	4 agrotóxicos	Água 5 mL	Ultrasom 15 min temperatura controlada a 80°C	[C ₈ MIM][PF ₆] 40 µL	5 min 3000 rpm	HPLC-UV	(LIANG <i>et al.</i> , 2013)
TC-IL-DLLME	3 agrotóxicos triazinas	Água 10 mL	Metanol 165 µL	[C ₈ MIM][PF ₆] 50 µL	20 min 4000 rpm	HPLC-UV	(ZHOU <i>et al.</i> , 2014)
US-IL-DLLME	4 anti-inflamatórios não esteroidais	Água 10 mL	Metanol 210 µL	[C ₈ MIM][PF ₆] 74 µL	10 min 8000 rpm	HPLC- PDA	(JI <i>et al.</i> , 2014) (TOLEDO- NEIRA <i>et al.</i> , 2015)
IL-DLLME	3 Anti-inflamatórios	Água 5 mL	Metanol 210 µL	[BMIM][PF ₆] 90 µL	5 min 4000 rpm	HLPC-DAD	(TOLEDO- NEIRA <i>et al.</i> , 2015)

SIGLA	ANALITOS	MATRIZ VOLUME DE AMOSTRA	SOLVENTE DISPERSOR	SOLVENTE EXTRATOR	CENTRIFUGAÇÃO	TÉCNICA DE DETERMINAÇÃO	REFERÊNCIAS
UA IL-DLLME	acetato de ulipristal	Água 10 mL	Ultrasom 10 min	[C ₈ MIM][PF ₆] 50 µL	5 min 2500 rpm	HPLC-UV	(GONG <i>et al.</i> , 2015)
IL-DLMME On-line in- syringe MSA- DLLME	4 agrotóxicos	Água 5 mL	Metanol 500 µL	[C ₆ MIM][PF ₆] 45 µL	5 min 3500 rpm	HPLC-DAD	(TADESSE <i>et al.</i> , 2015)
	6 filtros UV	Água 10 mL	Acetonitrila 200 µL	[C ₆ MIM][PF ₆] 20 µL		HPLC-UV	(SUÁREZ <i>et al.</i> , 2016)

^aTC, temperatura controlada; ^b[C₆MIM][PF₆], hexafluorofosfato de 1-hexil-3-metilimidazólio; ^cHPLC-UV, cromatografia líquida de alta eficiência acoplada ao detector ultravioleta, do inglês *high performance liquid chromatography with ultraviolet detector*; HPLC-DAD; ^d[C₈MIM][PF₆], hexafluorofosfato de 3-metil-1-octil-imidazólio; ^eHPLC-FLD cromatografia líquida de alta eficiência acoplada ao detector por fluorescência, do inglês *high pressure liquid chromatography with fluorescence detector*; ^fcromatografia líquida de alta eficiência acoplada ao detector de arranjo de diodos, do inglês *high pressure liquid chromatography with diode array detector*; ^gassistida por ultrassom; ^hBMIM-NTf₂ 1-butil-3-metilimidazólio bis (trifluorometanosulfonil) imida; ⁱ[C₄MIM][PF₆], hexafluorofosfato de 1-butil-3-metilimidazólio, ^j1-hexil-3-metilimidazólio FAP; ^kMR agitação magnética; ^mLC-MS/MS, cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas em série, do inglês *liquid chromatography tandem mass spectrometry*; ⁿmicroextração por emulsificação com líquido iônico assistida por ultrassom, do inglês *ionic liquid-based ultrasound-assisted emulsification microextraction*

4.5.1. Líquidos iônicos

Líquidos iônicos (ILs) consistem em um diverso grupo de sais com baixo ponto de fusão (<100 °C) que se encontram na fase líquida em um considerável intervalo de temperatura. Este desempenho é possível, uma vez que os ILs são formados pela combinação de um cátion volumoso e assimétrico com um ânion fracamente coordenante, o que causa uma redução na interação entre eles e na energia de rede do sal (GALIŃSKI *et al.*, 2006).

Os ILs são produzidos a partir da combinação de vários cátions orgânicos e ânions orgânicos ou inorgânicos. Normalmente, os cátions utilizados no IL incluem imidazólio, piridínio, pirrolidínio, sulfônio, amônio e fosfônio e os ânions incluem haletos, nitratos, tetrafluoroboratos, triflatos, hexafluorofosfato, e bis(fluorosulfonil)imida e bis(trifluorometilsulfonil)imida. As Figuras 5 e 6 mostram as estruturas químicas das principais classes de cátions e ânions de líquidos iônicos descritos na literatura.

Figura 5 - Principais classes de cátions de líquidos iônicos

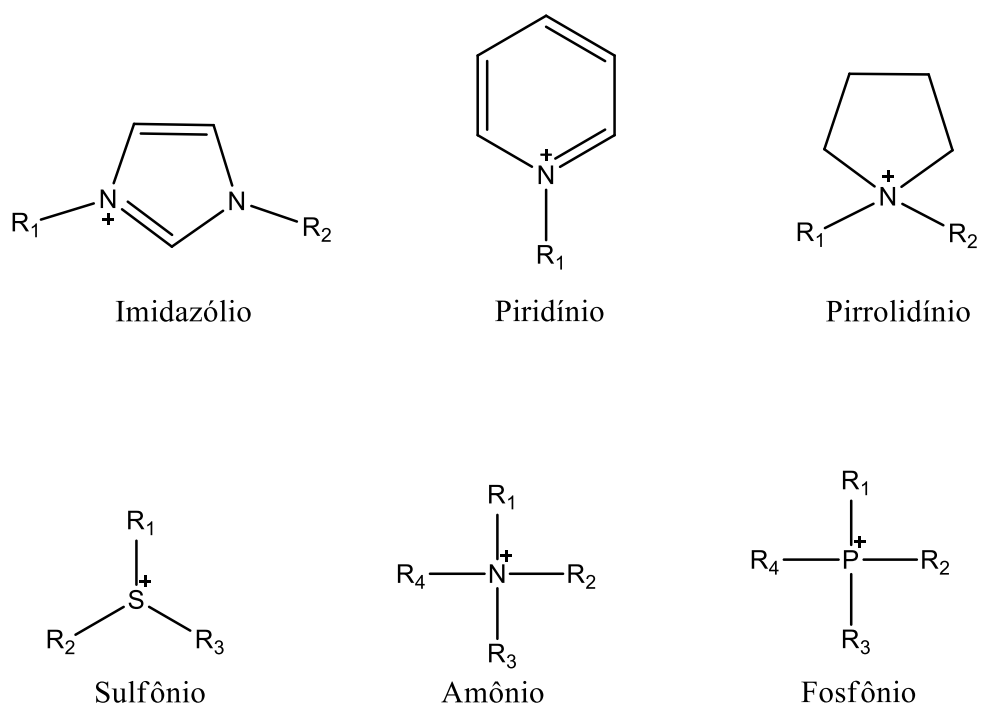
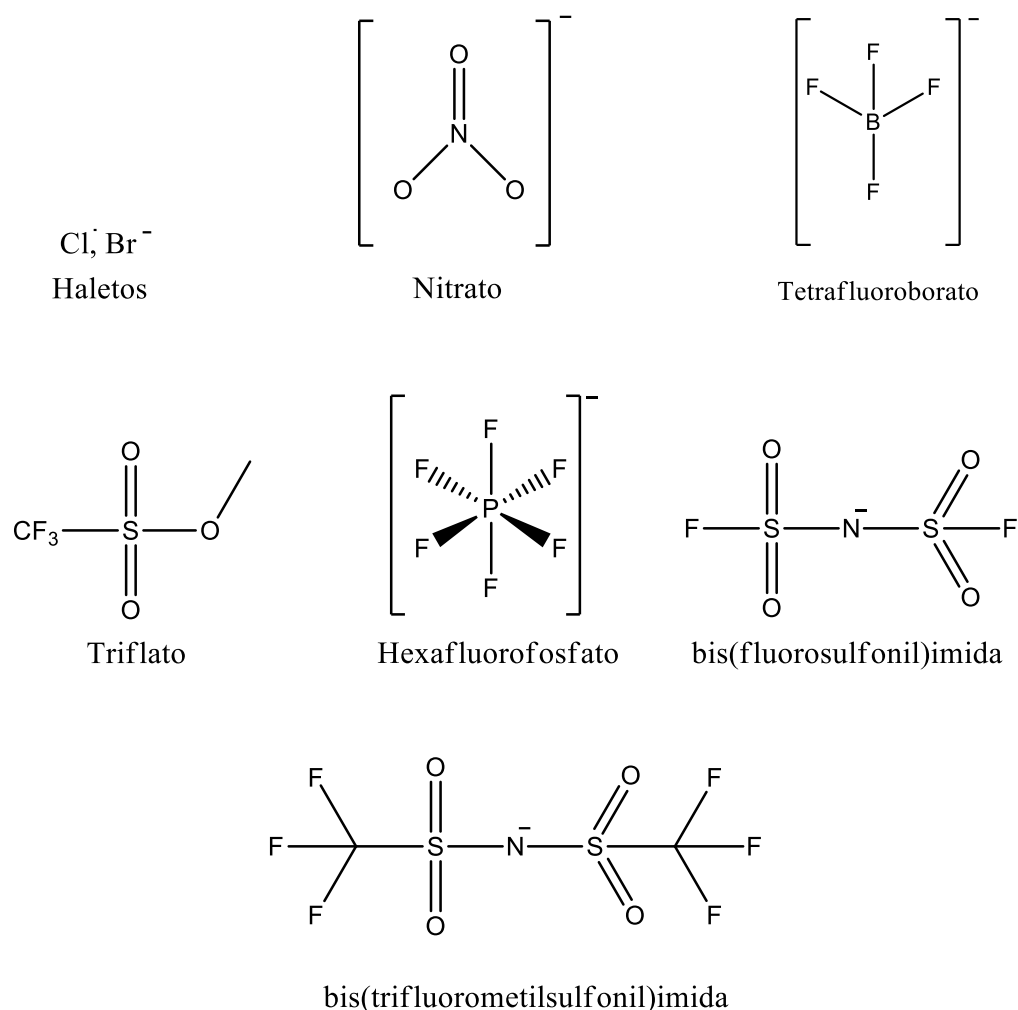


Figura 6 - Principais classes de ânions de líquidos iônicos



Os ILs são solventes verdes e biocompatíveis (têm baixa toxicidade) em comparação com os solventes tradicionais, entretanto, a toxicidade do IL depende da combinação dos diferentes cátions e ânions (LI *et al.*, 2013; ABDELHAMID, 2015).

Devido as propriedades como baixa pressão de vapor e estabilidade térmica, os ILs são classificados como “solventes verdes” e potenciais substitutos aos solventes orgânicos voláteis. O fato dos ILs não contribuírem para poluição atmosférica não descarta a preocupação com a toxicidade deles, uma vez que alguns ILs são solúveis em água e podem entrar no ambiente por esta via e podem causar efeitos tóxicos para os organismos aquáticos. Entretanto, alguns estudos relatam que o impacto ambiental dos ILs é reduzido, apresentando um baixo risco não só para o ambiente mas também para a

saúde humana (DOCHERTY *et al.*, 2005; AMDE *et al.*, 2015; FOULET *et al.*, 2016).

Algumas propriedades físico-químicas dos ILs como o ponto de fusão dependem das comparações das frações catiônicas com as frações aniônicas e não dependem da simetria dos cátions. Os aniões de maior simetria mostram maiores pontos de fusão e vice e versa. Por exemplo, os sais 1,3-dimetilimidazólio e 1,3-dietilimidazólio apresentam pontos de fusão maiores que os homólogos 1-etil-3-metilimidazólio ou 1-butil-3-metilimidazólio. Os pontos de fusão foram aumentados com a diminuição dos comprimentos da cadeia alquilo. No entanto, em certas cadeias carbônicas, por exemplo, 8-10 átomos de carbono, há um aumento aumenta das forças de Van Der Waals e do ponto de fusão (ABDELHAMID, 2015).

A estabilidade térmica dos ILs é uma das características mais importantes para técnicas que utilizam altas temperaturas, a estabilidade térmica dos ILs varia de 200 °C a 400 °C. Entretanto, esta estabilidade térmica depende da estrutura dos ILs. Outra característica dos ILs é a sua densidade, a maioria dos ILs apresentam densidade superior à da água na faixa de 1,1-1,5 g mL⁻¹ (ABDELHAMID, 2015; POOLE *et al.*, 2015).

Os ILs apresentam elevada viscosidade, esta é uma propriedade físico-química importante sendo considerada um obstáculo para aplicações dos ILs como solventes extratores. Para superar essa barreira, quando se utiliza os ILs como solvente extrator na DLLME, se faz o uso da mistura dele com um solvente dispersor ou extrações com aumento da temperatura. Dessa forma há redução na viscosidade dos ILs auxiliando na sua homegenização na amostra aquosa (ABDELHAMID, 2015; POOLE *et al.*, 2015). Na Tabela 3, são apresentadas as propriedades físico-químicas dos ILs mais utilizados como solventes extratores na DLLME.

Tabela 3 - Propriedades físico-químicas dos líquidos iônicos mais usados na DLLME.

Nomenclatura dos ILs	Fórmula molecular	Massa molar	Ponto de fusão (°C)	Densidade (g/cm ³ ; 25 °C)	Viscosidade (cP; 25 °C)	Tensão superficial (mN m ⁻¹)	Solubilidade em água (g L ⁻¹)
hexafluorofosfato de 1-butil-3-metilimidazólio	[C ₄ Min][PF ₆] C ₈ H ₁₅ F ₆ N ₂ P	284,1	4-10	1,31 – 1,36	207 – 450	48,8	18
hexafluorofosfato de 1-hexil-3-metilimidazólio	[C ₆ MIM][PF ₆] C ₁₀ H ₁₉ F ₆ N ₂ P	312,24	-61	1,30	560 - 586	43,4	7,5
hexafluorofosfato de 1-octil-3-metilimidazólio	[C ₈ MIM][PF ₆] C ₁₂ H ₂₃ F ₆ N ₂ P	340,29	- 82 a - 40	1,24 – 1,27	682 - 982	37,7	2

Fonte: (RUIZ-ACEITUNO *et al.*, 2013; ZHANG, J. *et al.*, 2013)

4.5.2. IL-DLLME Convencional

O método IL-DLLME convencional baseia-se na injeção da mistura do solvente extrator (IL) e solvente dispersor na amostra aquosa contendo os analitos. A mistura é agitada manualmente e após ocorre centrifugação da amostra para a concentração dos analitos na microgota. Este método é simples, pois não necessita de qualquer passo adicional e o solvente dispersor comumente utilizado é o metanol (TRUJILLO-RODRÍGUEZ *et al.*, 2013).

O método foi proposto por Liu *et al* (2009) para determinação de quatro inseticidas heterocíclicos em amostras de água. Utilizou metanol como solvente dispersor e o hexafluorofosfato de 1-hexil-3-metilimidazólio como solvente extrator, obtendo recuperações entre 79 a 110% com RSDs menores que 10,7% (LIU *et al.*, 2009).

A IL-DLLME convencional foi aplicada para determinação de diclorodifeniltricloroetano (DDT) e seus metabólitos em amostras de água. A extração constitui na injeção da mistura de 70 µL de hexafluorofosfato de 1-hexil-3-metilimidazólio ([C₆MIM][PF₆]) e 600 µL de acetona em 5 mL de água, após a mistura, centrifugou-se a 3000 rpm por 10 minutos e as recuperações ficaram entre 81 – 102% com desvio padrão relativo (RSD, do inglês relative standard deviation) menores que 12% (ZHAO *et al.*, 2011a).

Na extração de tetrabromobisfenol A em amostras de água aplicando a IL-DLLME, os autores utilizaram 5 mL de água, 70 µL de hexafluorofosfato de 1-hexil-3-metilimidazólio ([C₆MIM][PF₆]) e 500 µL de acetonitrila. A mistura foi posteriormente centrifugada a 3000 rpm por 6 minutos e as recuperações ficaram entre 84 – 110% com RSDs menores que 9% (ZHAO *et al.*, 2011b) .

As aplicações analíticas de IL-DLLME convencional não tem sido apenas para determinação de compostos orgânicos em amostras aquosas, mas também para amostras sólidas. Entretanto, quando amostras sólidas são utilizadas, é necessário a dissolução da amostra, seguida por reconstrução do extrato com água. Desta forma, a IL- DLLME convencional foi aplicada para determinação de compostos orgânicos em bananas (RAVELO-PÉREZ *et al.*, 2009), solos (ASENSIO-RAMOS *et al.*, 2011) e cosméticos (ZHOU *et al.*, 2012).

Algumas modificações recentes na IL-DLLME convencional incluem aquelas na qual o solvente dispersor não é um solvente orgânico, mas um IL hidrofílico. A primeira aplicação foi desenvolvida por (ZHAO *et al.*, 2011c) para determinação de triclosan e triclocarban em amostras de água e utilizaram como solvente extrator o IL hexafluorofosfato de 1-octil-3-metilimidazólio e como solvente dispersor o tetrafluorborato de 1-butil -3-metilimidazólio ([C₄MIM][BF₄]).

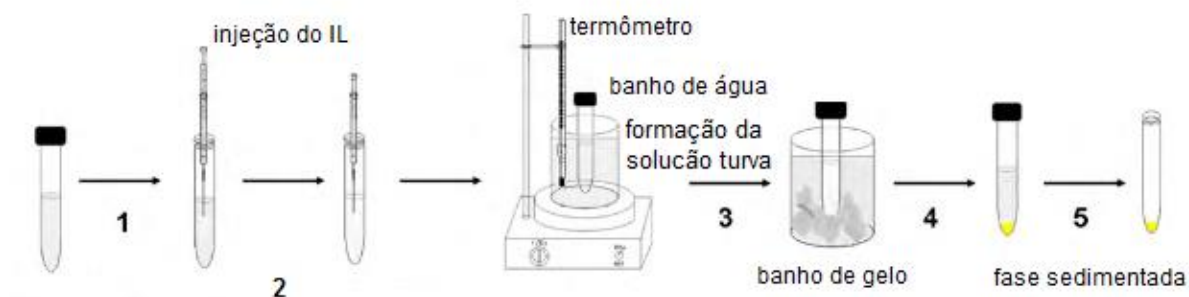
4.5.3. Modificações da IL-DLLME

Algumas modificações na técnica têm sido efetuadas com o objetivo de torná-la mais rápida e mais eficiente para determinadas classes de compostos, gerar resíduos menos tóxicos, causar menos exposição do analista, diminuir o consumo de solvente, entre outros. Dentre essas modificações estão a IL-DLLME com temperatura controlada, IL-DLLME assistida por ultra-som, micro-ondas ou vórtex e a IL-DLLME convencional sem a necessidade de gasto energético realizada apenas com uma simples mistura ternária dos componentes (amostra aquosa contendo analitos, solvente extrator e o solvente dispersor).

4.5.3.1. IL – DLLME com temperatura controlada

Na IL-DLLME com temperatura controlada, a amostra aquosa contendo os analitos e o IL hidrofóbico é submetida ao aquecimento. Esse procedimento favorece a solubilidade do IL na amostra aquosa e conseqüentemente auxilia na dispersão deste na amostra. Após o aquecimento, o método requer o arrefecimento da solução para facilitar a sedimentação das microgotas do IL contendo os analitos extraído. Em alguns casos, o método necessita da utilização de solventes dispersores, tais como, metanol, etanol, acetonitrila ou acetona. Na Figura 7, é apresentado o esquema do procedimento de extração (TRUJILLO-RODRÍGUEZ *et al.*, 2013).

Figura 7 - Esquema do procedimento de extração da IL-DLLME com a temperatura controlada.



Fonte: adaptado de Zhang e Shi (2010) (ZHANG *et al.*, 2010)

As temperaturas de extração normalmente utilizadas na IL-DLLME com temperatura controlada variam de 50 – 90 °C, temperaturas maiores que 90 °C não podem ser utilizadas devido a evaporação da água. Na IL-DLLME com temperatura controlada, o tempo de extração inclui o aquecimento e o arrefecimento. Assim, esta técnica apresenta um tempo maior de extração quando comparada com a IL-DLLME tradicional. Em alguns casos, os tempos de extração são maiores que 30 minutos (TRUJILLO-RODRÍGUEZ *et al.*, 2013; SARAJI *et al.*, 2014).

Alguns trabalhos publicados utilizaram a IL-DLLME com temperatura controlada para análise de compostos orgânicos em matrizes ambientais. Zhou e colaboradores (2008) aplicaram a IL-DLLME com temperatura controlada para determinar metil parationa e proxim em diferentes amostras de água. A quantificação foi realizada por HPLC-UV. A extração foi realizada utilizando 50 µL de hexafluorofosfato de 1-hexil-3-metilimidazólio e 10 mL de amostra, temperatura de aquecimento de 80 °C por 30 minutos. Após, a solução foi submetida ao banho de gelo por 30 minutos, nessa fase ocorre a formação da solução turva e os analitos migram para o IL. Os limites de detecção (LODs) foram de 0,17 µg L⁻¹ para o metil paration e 0,29 µg L⁻¹ para o proxim e as

recuperações ficaram na faixa de 88,2 a 103,6% com precisão inferior a 3% (ZHOU *et al.*, 2008).

Bai e colaboradores (2009) aplicaram a IL-DLLME com temperatura controlada para determinação de dicloro-difenil-tricloroetano (DDT) e os seus metabólitos em diferentes amostras de água. A extração foi realizada com 10 mL de amostra e 50 μL de hexafluorofosfato de 1-hexil-3-metilimidazólio que foram submetidos a temperatura de 75 °C por 35 minutos. A quantificação foi realizada por HPLC-UV, os LODs ficaram na faixa de 0,24 a 0,45 ng mL^{-1} e as recuperações entre 87 e 110% com RSDs menores que 7% (BAI *et al.*, 2009).

Na determinação de clorobenzenos em água, Kamarei e colaboradores (2010) utilizaram a IL-DLLME com temperatura controlada. A extração foi realizada com 5 mL de amostra e 75 μL hexafluorofosfato de 1-butil-3-metilimidazólio que foram submetidos a temperatura de 50 °C por 4 minutos. Após a completa dissolução do IL, a solução foi submetida ao banho de gelo por 20 minutos para formação da solução turva. A quantificação foi realizada por HPLC-DAD, os LODs ficaram na faixa de 0,05 $\mu\text{g L}^{-1}$ a 0,1 $\mu\text{g L}^{-1}$ e as recuperações variaram de 91 a 109% com RSDs menores que 10% (KAMAREI *et al.*, 2010).

A técnica também foi utilizada para a determinação de ésteres de ftalato em amostras de água. Foram utilizados 5 mL de amostra e a mistura de 750 μL de acetonitrila e 32 μL de hexafluorofosfato de 1-octil-3-metilimidazólio que foram submetidos ao um banho de água a 50 °C por 5 minutos, em seguida, a extração foi submetida a um banho de gelo por 3 minutos. A quantificação foi realizada por um cromatografo líquido com detector de comprimento de onda variável (HPLC-VWD). Os LODs foram obtidos entre 0,68 e 1,36 ng mL^{-1} e as recuperações entre 69,9 a 84,9% com RSDs menores que 4% (ZHANG *et al.*, 2011).

Em um estudo publicado por Gao e colaboradores (2012) foi desenvolvido um método empregando IL-DLLME com temperatura controlada para determinação de tiram, metalaxil, dietofencarbe, miclobutanil e tebuconazol. A quantificação foi realizada por HPLC-UV. A extração foi realizada com 10 mL de amostra e 55 μL hexafluorofosfato de 1-octil-3-metilimidazólio que foram submetidos a 90 °C por 30 minutos. Os LODs

ficaram na faixa de 0,32–0,79 $\mu\text{g L}^{-1}$ e as recuperações variaram de 84,6 – 102% com RSD inferior a 11% (GAO *et al.*, 2012).

A determinação de filtros UV em amostras de água foi realizada utilizando 10 mL de amostra aquosa e 20 μL de 1-hexil-3-metilimidazólio tris (pentafluoroetil) trifluorofosfato, submetidos a um banho quente a 50 °C por 15 minutos até a dissolução completa do IL. A quantificação foi realizada por HPLC-UV. Os LODs ficaram na faixa de 0,2 – 5 ng mL^{-1} e as recuperações entre 88 a 116% com RSD inferior a 10% (ZHANG, Y. *et al.*, 2013).

Na determinação de agrotóxicos triazinas em amostras de água utilizando a IL-DLLME com temperatura controlada, 10 mL de amostra contendo 20% (m/v) de cloreto de sódio e 50 μL de hexafluorofosfato de 1-octil-3-metilimidazólio foram colocados em banho-maria a temperatura de 80 °C por 30 minutos, após submetido a um banho de gelo até a formação da solução turva. A quantificação foi realizada por HPLC-UV. Os LODs ficaram na faixa de 0,05 – 0,06 $\mu\text{g L}^{-1}$ e as recuperações entre 85 a 100% com desvios inferiores a 10% (ZHOU *et al.*, 2014).

A IL-DLLME com temperatura controlada também tem sido aplicada para a determinação de analitos inorgânicos em diferentes amostras, incluindo mexilhões (LEMOS *et al.*, 2015), cabelos (ARAIN *et al.*, 2015), e batatas e maçãs (ZEEB *et al.*, 2011).

4.5.3.2. IL-DLLME assistida por ultra-som, micro-ondas ou vórtex

Este modo de IL-DLLME requer aplicação de ultra-som, micro-ondas, vórtex, ou qualquer fonte de agitação que facilitar a dispersão do IL hidrofóbico na solução aquosa e assegurar a adequada formação da solução turva contendo as microgotas. A aplicação de ultra-som, micro-ondas ou vórtex é acompanhada por um aumento da temperatura. Em alguns casos, um solvente dispersor é necessário para melhorar a cinética, este pode ser um solvente orgânico, um agente tensoativo ou um IL hidrofílico (TRUJILLO-RODRÍGUEZ *et al.*, 2013; SARAJI *et al.*, 2014).

A IL-DLLME assistida por ultra-som, baseia-se na aplicação de ondas elásticas com frequências entre 20 a 500 kHz. Durante a sonificação, ocorre o

processo de cavitação e o atrito na interface que aceleram o processo de extração. A cavitação é o processo no qual ocorre à formação e implosão das bolhas (microgotas) e no atrito da interface ocorre à homogeneização entre o IL e a amostra aquosa. Ambos os processos ajudam na formação da solução turva, agilizam na transferência de massa dos analitos da amostra aquosa para o solvente extrator, reduzem o tempo de equilíbrio e conseqüentemente o tempo de extração e assim, aumenta a eficiência da extração (ANDRUCH *et al.*, 2013; SZRENIAWA-SZTAJNERT *et al.*, 2013; ALBERO *et al.*, 2015).

O processo de extração pode ser realizado mais comumente usando um banho de ultra-som ou a aplicação de uma sonda ultra-sônica. Entretanto, a sonda ultra-sônica apresenta maiores vantagens sobre o banho de ultra-som em virtude da sonda concentrar sua energia em uma zona de amostragem localizada, tornando a cavitação no líquido mais eficiente. No entanto, o banho de ultra-som permite a extração de várias amostras ao mesmo tempo numa maneira simples e econômica (ALBERO *et al.*, 2015).

A IL-DLLME assistida por ultra-som foi proposta pela primeira vez por Zhou e colaboradores para determinação de aminas aromáticas em água (ZHOU *et al.*, 2009). Esta técnica tem sido amplamente utilizada para a determinação de compostos orgânicos em diferentes matrizes como urina (SUN *et al.*, 2011), vinho (WANG, S. *et al.*, 2011), sangue (FERNÁNDEZ *et al.*, 2016) e também para determinação de metais em refrigerantes e chás (TUZEN *et al.*, 2015), amostras de mexilhões (LEMOS *et al.*, 2015) e amostras de frutas e vegetais (JALBANI *et al.*, 2015).

Xu e colaboradores (2011) foram os primeiros a relatarem a IL-DLLME assistida por micro-ondas, no qual desenvolveram um método simultâneo de derivatização e extração de formaldeídos em bebidas (Xu, *et al.*, 2011a). A energia de micro-ondas é uma radiação não-ionizante (frequência 300-300000 MHz), que atua diretamente sobre as moléculas por condução iônica e rotação de dipolos (WANG *et al.*, 2016). Essa radiação entra em contato com os IL que são formados pela combinação de cátions orgânicos e vários ânions, sendo estes suscetíveis a dissipação com a energia do micro-ondas (Xu, *et al.*, 2011b), assim facilitando o particionamento do IL na amostra aquosa (WANG *et al.*, 2016). A IL-DLLME assistida por micro-ondas tem obtido

excelentes resultados para a extração de compostos orgânicos em diferentes amostras, e comparada a métodos de extração convencionais, obtém a melhor eficiência na extração em um menor tempo (ANDRUCH *et al.*, 2013).

O processo de extração utilizando ultra-som ou micro-ondas, contudo, pode trazer alguns problemas uma vez que a radiação pode levar a formação de emulsões estáveis, dificultando a separação das fases. Além disso, pode ocorrer a degradação do analito e o consumo de mais energia (ANDRUCH *et al.*, 2013; ZHANG *et al.*, 2016).

Dentre as modificações citadas anteriormente e com o intuito de diminuir algumas desvantagens apresentadas na IL-DLLME assistida por ultra-som ou micro-ondas, surgiu a IL-DLLME assistida por vórtex, na qual a dispersão do solvente extrator é realizada pelo vórtex. As vantagens da IL-DLLME assistida por vórtex comparada a IL-DLLME assistida por ultra-som ou micro-ondas são; menor custo e a formação da solução turva que quando formada por vórtex forma uma mistura termodinamicamente mais instável, facilitando a separação das fases (ANDRUCH *et al.*, 2013). A IL-DLLME assistida por vórtex tem sido aplicada para determinação de compostos orgânicos e inorgânicos em sucos (ZHANG *et al.*, 2016) e vinhos (GURE *et al.*, 2015).

5. MATERIAIS E MÉTODOS

O desenvolvimento experimental consistiu em avaliar e validar os métodos para determinação multiclasses de agrotóxicos e PPCPs em amostras de água. Para a extração e a pré-concentração foram utilizadas as técnicas de preparo de amostra DLLME-SFO e IL-DLLME e para determinação LC-MS/MS. O estudo foi desenvolvido no Laboratório de Análise de Compostos Orgânicos e Metais (LACOM), da Escola de Química e Alimentos (EQA), na Universidade Federal do Rio Grande - FURG.

5.1. Instrumentação

- ✓ Balança Analítica de precisão modelo FA 2104N, Bioprecisa (Curitiba, PR, Brasil);
- ✓ Bomba à vácuo Tecnal TE-058 (Piracicaba, SP, Brasil);
- ✓ Micropipetadores automáticos com capacidade variável (100 – 1000 µL) (Labmate, Polônia; Digipet);
- ✓ pHmetro Hanna pH20 pH21 – eletrodo de vidro combinado (São Paulo, SP, Brasil);
- ✓ Sistema de filtração em membrana Phenomenex (Torrance, CA, EUA);
- ✓ Sistema de Purificação de água Milli-Q Direct-Q UV3® Millipore (Millipore, Bedford, MA, USA);
- ✓ Ultrassom Quimis modelo Q335D (Diadema, SP, Brasil);
- ✓ Centrífuga de tubos microprocessada modelo Quimis® Q222T (QUIMIS aparelhos científicos);
- ✓ Cromatógrafo a líquido *Alliance Separations* modelo 2695 Waters (Milford, MA, USA) equipado com amostrador automático, bomba quaternária, sistema de degaseificação, Detector MS, Micromass® Quatro Micro™ API Waters, com fonte API, utilizando o modo de ionização por Eletrospray (ESI), sistema de aquisição de dados através do software Masslynx 4.0 Waters;
- ✓ Coluna analítica Kinetex C8 (3,0 mm × 50 mm i.d., 2,6 µm) Phenomenex (Torrance, CA, EUA);
- ✓ Sistema gerador de nitrogênio Peak Scientifics (Instruments Ltda., Escócia).

5.2. Reagentes, solventes e materiais

- ✓ Ácido clorídrico ACS (Merck, RJ, Brasil);
- ✓ Ácido fórmico p.a. (Merck, RJ, Brasil);
- ✓ Água destilada;
- ✓ Água Ultrapura, purificada em sistema Direct-Q UV3® Millipore (resistividade 18,2 MΩ cm);
- ✓ Acetona, acetonitrila e metanol grau HPLC (J.T Baker, Mallinckrodt, NJ, USA);
- ✓ 1- dodecanol (Sigma Aldrich, produzido na Alemanha, Alemanha), hexadecano (Sigma Aldrich, produzido na Argentina), 1-octanol (Sigma Aldrich, produzido na Switzerland, Suíça), 1-undecanol (Sigma Aldrich, produzido nos Estados Unidos), hexafluorofosfato de 1-butil-3-metilimidazólio (Sigma Aldrich, produzido na Switzerland, Suíça) e hexafluorofosfato de 1-hexil-3-metilimidazólio (Sigma Aldrich, produzido na Alemanha, Alemanha);
- ✓ Padrões analíticos: amitriptilina, diclofenaco sódico, furosemida e mebendazol foram comprados da farmacopéia americana (United States Pharmacopeia, EUA). Albendazol, carbamazepina, cloridrato de diltiazem, gemfibrozil, glibenclamida, haloperidol, nimesulida, nifedipino nitrato de miconazol e propilparabeno foram adquiridos da Fiocruz (Fundação Oswaldo Cruz, Brasil). Bisfenol-A, 2,4-D, atrazina, atrazina-d5, azoxistrobina, bentazona, carbofurano, carbofurano-d3, ciproconazol, clomazona, diclorana, diuron, diuron-d6 difenoconazol, fenoxaprope-p-etílico, fipronil, iprodiona, irgarol, malationa, piraclostrobina, propanil, propiconazol, tebuconazol e trifloxistrobina foram provenientes da Sigma Aldrich (Brasil). Triclocarban, triclosan, epoxiconazol e penoxsulam foram adquiridos da empresa Dr. Ehrenstofer GmbH (Augsburg, Alemanha);
- ✓ A pureza dos padrões analíticos foi superior a 96% para todos os analitos, e, se necessário, foi feita a correção de pureza durante o preparo;
- ✓ Gás argônio analítico 5.0 usado como gás de colisão no sistema LC-MS/MS (White Martins, Brasil);
- ✓ Detergente Extran® neutro (Merck, Brasil);

- ✓ Membrana filtrante de nylon 0,45 μm de diâmetro de poro e 47 mm de diâmetro (Millipore, SP, Brasil);
- ✓ Frascos de vidro (vial), capacidade de 2,0 mL;
- ✓ Vidraria comum de laboratório (balões volumétricos, pipetas volumétricas, béquer, etc).

5.3. Preparo das soluções analíticas

As soluções analíticas estoque, contendo 1000 mg L^{-1} de cada composto foram preparadas pela dissolução dos padrões sólidos em metanol, considerando o grau de pureza. As soluções foram armazenadas em frascos âmbar e estocadas a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$.

A partir das soluções estoques de 1000 mg L^{-1} foram preparadas soluções trabalho na concentração de 100 mg L^{-1} de cada substância em metanol.

Uma solução trabalho contendo a mistura de todos os analitos na concentração de 5 mg L^{-1} foi preparada a partir da solução de 1000 mg L^{-1} . Diluições desta solução trabalho na fase móvel foram preparadas diariamente para o estudo e validação do método.

5.4. Limpeza da vidraria

Os materiais utilizados nesse estudo (vidraria, tubos de polipropileno, espátulas, frascos de vidro (balões volumétricos e etc.) foram lavados, inicialmente com água da torneira e água destilada. Em seguida, o material foi mergulhado em detergente neutro 5% por 24 h e enxaguados com água da torneira, água destilada e rinsados com acetona. Os vials foram lavados com água da torneira e água destilada e colocados no banho ultrassom com metanol 15%, após lavados com água destilada e rinsados com acetona. Posteriormente foram secos em estufa a $50\text{ }^{\circ}\text{C}$, com exceção da vidraria volumétrica, e armazenados em ambiente livre de poeira.

5.5. Seleção dos analitos para o estudo

Diante do objetivo deste trabalho de verificar a viabilidade do uso das técnicas DLLME-SFO e IL-DLLME para a extração de analitos de uma ampla variedade de classes, foi escolhido um número grande de analitos com diferentes propriedades físico-químicas, os quais variam em polaridade, solubilidade em água e acidez. Cabe salientar, que para estudo das técnicas se utilizou uma mistura na qual havia 50 analitos (PPCPs e agrotóxicos). Na Tabela 4 apresenta as principais propriedades físico-químicas e características dos agrotóxicos e PPCPs selecionados após otimização.

Herbicidas, fungicidas, inseticidas, anti-incrustantes, anti-hipertensivos, antimicrobianos, anti-helmínticos, plastificantes, anti-diabéticos, anti-inflamatórios, diuréticos, hipolipêmicos, antipsicóticos e filtros solares fazem parte dos analitos em estudo.

Para a seleção dos agrotóxicos estudados, foi realizado uma revisão dos agrotóxicos mais empregados na cultura do arroz irrigado, predominante no sul do estado do Rio Grande do Sul. Agrotóxicos como o clomazona, atrazina, carbofurano, epoxiconazol, diuron e tebuconazol entre outros têm sido amplamente detectados em águas tratadas e de superfície nesta região (CALDAS *et al.*, 2013). Os PPCPs selecionados têm sido detectados em amostras ambientais no Brasil e no mundo (CALDAS *et al.*, 2013; CELANO *et al.*, 2014) em amostras de peixes (TANOUE *et al.*, 2014), lodo de esgoto (YU *et al.*, 2012) e em água do mar (BENEDÉ *et al.*, 2014).

Tabela 4 - Valores de coeficiente de partição octanol-água (Kow), solubilidade em água, pKa, número CAS e uso dos PPCPs e agrotóxicos em estudo (DRUGBANK; TOMLIN, 2003)

PPCPs	pKa	Log Kow	solubilidade em água (mg L ⁻¹)	Uso	Número CAS
albendazol	4,27 (básico) - 9,51 (ácido)	2,7	2,28	Anti-helmíntico	5496521-8
amitriptilina	9,4	4,92	9,71	Antidepressivo	50-48-6

PPCPs	pKa	Log Kow	solubilidade em água (mg L ⁻¹)	Uso	Número CAS
bisfenol-A (PUBCHEM)	n.e	3,32	300	Plastificante	80-05-7
carbamazepina	-3,8 (básico) - 15,96 (ácido)	2,45	17,7	Anticonvulsivo	298-46-4
cloridrato de ditalzem	8,18 (básico) - 12,86 (ácido)	2,8	465	Anti- hipertensivo	42399-41-7
diclofenaco sódico	4,15	4,51	2,37	Anti- inflamatório	15307-86-5
furosemida	-1,5 (básico) - 4,25 (ácido)	2,03	73,1	Diurético	54-31-9
genfibrozila	-4,8 (básico) - 4,42 (ácido)	3,4	0,01 (meio alcalino)	Hipolipêmico	25812-30-0
glibenclamida	-1,2 (básico) - 4,32 (ácido)	4,7	4	Hipoglicemiante	10238-21-8
haloperidol	8,66	4,3	14	Antipsicótico	52-86-8
mebendazol	3,93 (básico) - 8,44 (ácido)	2,83	71,3	Antiparasitário	31431-39-7
nimesulida	6,86 (ácido) - 8,9 (básico)	2,6	0,182	Anti- inflamatório	51803-78-2
nifedipino	5,33	2,5	17	Anti- hipertensivo	21829-25-4
nitrato de miconazol	6,77 (básico)	6,1	0,763	Antifúngico	22916-47-8

PPCPs	pKa	Log Kow	solubilidade em água (mg L ⁻¹)	Uso	Número CAS
propranolol	9,42	3,48	61,7	Anti-hipertensivo	525-66-6
propilparabeno (PUBCHEM)	n.e	3,04	500	Conservante	94-13-3
triclocarban (PUBCHEM)	n.e	4,90	0,00237	Antibacteriano, Antifúngico	101-20-2
triclosan	-6,7 (básico) - 7,68 (ácido)	5,53	6,05	Antisséptico	3380-34-5
agrotóxicos					
2,4 - D	2,73	2,58 - 2,83 (pH 1), 0,04 - 0,33 (pH 5)	23180	Herbicida	94-75-7
atrazina	1,7	3,05	480	Herbicida	1912-24-9
azoxistrobina		2,5	6	Fungicida	131860-33-8
carbofurano	n.e	1,52	320	Inseticida	1563-66-2
ciproconazol	n.e	3,1	93	Fungicida	94361-06-5
clomazona	n.e	2,5	1100	Herbicida	81777-89-1
diclorana	n.e	2,8	6,3	Fungicida	99-30-9
difenoconazol	1,1	4,4	15	Fungicida	119446-68-3
diuron	n.e	2,85	36,4	Herbicida	330-54-1
epoxiconazol	n.e	3,44	6630	Fungicida	106325-08-0
fenoxaprop-e- etilico	n.e	4,58	0,7	Herbicida	113158-40-0
fipronil	n.e	4,0	1,9 (pH 5)	inseticida	120068-37-3
iprodiona	n.e	3	13	Fungicida	36734-19-7
irgarol	n.e	3,95	7	Anti-incrustante	28159-98-0

PPCPs	pKa	Log Kow	solubilidade em água (mg L ⁻¹)	Uso	Número CAS
malationa	n.e	2,75	145	Inseticida	121-75-5
penoxsulam	5,1	-0,354	4,9	Herbicida	219714-96-2
piraclostrobina	n.e	3,99	1,9	Fungicida	175013-18-0
propanil	n.e	3,3	130	Herbicida	709-98-8
propiconazol	1,09	3,72	100	Fungicida	60207-90-1
tebuconazol	n.e	3,7	36	Fungicida	107534-96-3
trifloxistrobina	n.e	4,5	0,61	Fungicida	141517-21-7

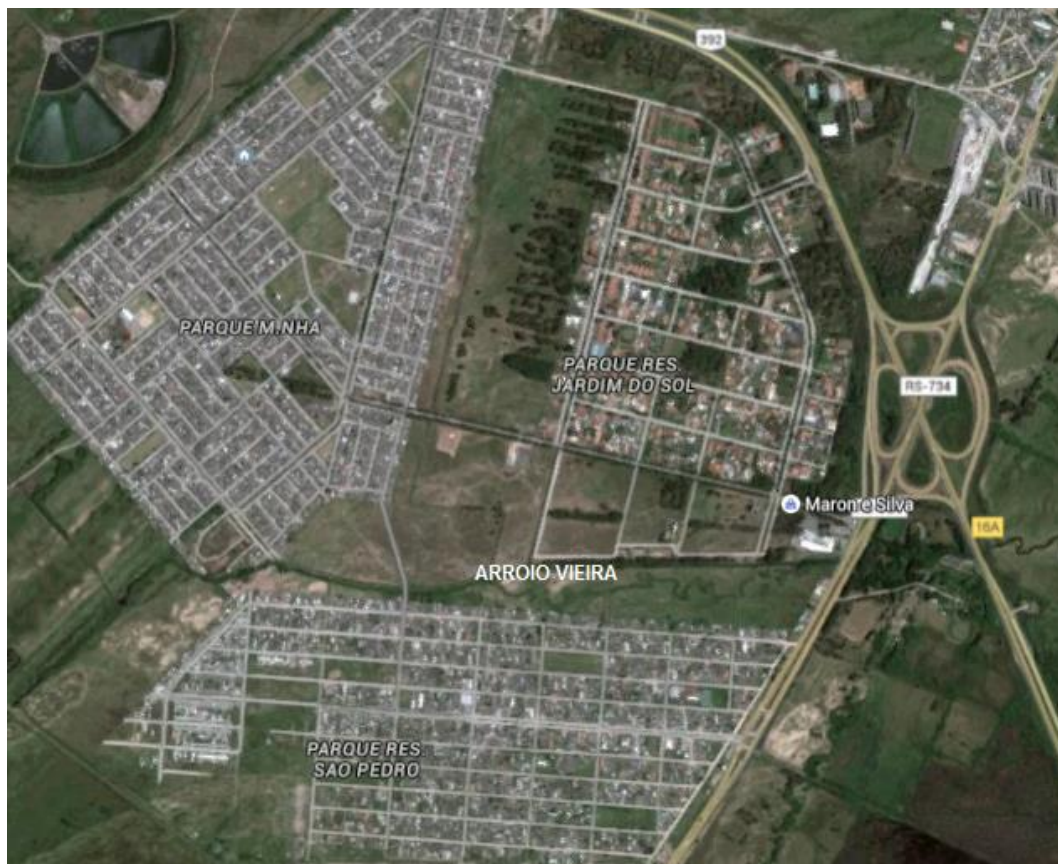
5.6. Amostras de água

Para avaliar os métodos, as amostras de água foram coletadas diariamente na rede municipal de abastecimento de água (torneira do laboratório).

Para a aplicabilidade do método, foram coletadas amostras de águas de superfície provenientes de diferentes locais do município de Rio Grande – RS.

Um dos pontos da coleta foi no Arroio Vieira. Este arroio cruza a zona urbana do município de Rio Grande, e a coleta foi realizada em agosto de 2014, entre os Bairros Parque Marinha, Jardim do Sol e Parque São Pedro que juntos compreendem mais de 30.000 moradores (Figura 8). Trata-se de um canal onde é coletada água do escoamento pluvial, mas onde existe também a presença de descarte de esgotos sanitários sem tratamento.

Figura 8 - Imagem do Google Earth para os pontos de coleta das amostras de água utilizadas na aplicação do método.



O segundo local foi em um poço artesiano situado na Quitéria, Zona Rural da cidade de Rio Grande (Figura 9), na qual existe grande atividade agrícola no cultivo de hortaliças. E a coleta da amostra foi realizada em setembro de 2014.

Figura 9 - Imagem do Google Earth para os pontos de coleta das amostras de água utilizadas na aplicação do método.



O terceiro local, foi o canal São Gonçalo. A amostra foi coletada em outubro de 2014, na entrada da companhia riograndense de saneamento (CORSAN), antes do tratamento. O Canal São Gonçalo faz a ligação entre a Lagoa dos Patos e a Lagoa Mirim. Ao redor deste canal há intensa atividade agrícola, principalmente o cultivo do arroz irrigado. Esta água é captada para tratamento e posterior abastecimento da cidade de Rio Grande.

As amostras foram coletadas de acordo com o Guia Nacional de coleta e preservação de amostras. Um litro (1 L) de amostra foi coletado com auxílio de um balde de aço inox e transferido para um frasco de vidro âmbar, armazenadas em isopor com gelo e levada ao laboratório para extração e análise (BRANDÃO *et al.*, 2011).

Nas amostras foram medidos o pH e a turbidez. Nenhuma etapa prévia a extração, como por exemplo, filtração, foi necessária.

Para controle da eficiência da extração para o método DLLME-SFO, foi adicionada atrazina-d5 nas amostras como padrão de recuperação. A fortificação foi realizada no nível de $5 \mu\text{g L}^{-1}$. Este composto foi escolhido, pois é análogo deuterado de um composto em estudo. A escolha do nível de

fortificação foi baseada na curva analítica dos compostos em estudo. Entretanto para avaliar a eficiência da extração do método IL-DLLME foram adicionados carbofurano-d3 e diuron-d6 ambos na concentração de 5 µg L⁻¹.

Para aplicabilidade do método DLLME-SFO, as amostragens foram realizadas em três meses, setembro, agosto e outubro de 2014, em três pontos de amostragem. O método IL-DLLME foi aplicado apenas nas amostras do Arroio Viera no mês de abril de 2016.

A quantificação das amostras foi realizada pelo método de adição padrão. Este modo de padronização permite uma quantificação mais correta da amostra uma vez que os efeitos causados pela matriz e as perdas na extração são considerados na construção da curva analítica (SANTE, 2015).

Para a quantificação pelo método de adição padrão, concentrações conhecidas da mistura dos padrões foram adicionadas nas amostras em pelo menos 5 níveis de concentrações e a amostra sem adição foi analisada em triplicata. Obtendo-se a equação da reta ($y = a + bx$) na qual a concentração do analito é determinada através da extrapolação da curva analítica. As amostras e a curva foram extraídas e as determinações realizadas no LC-MS/MS.

5.7. Avaliação do sistema cromatográfico LC-MS/MS para determinação de agrotóxicos e PPCPs em amostras de água

As determinações foram realizadas empregando LC-MS/MS que tornou-se uma importante ferramenta analítica na determinação de contaminantes orgânicos, em função da excelente combinação entre a cromatografia líquida e a espectrometria de massas. Desta forma, este acoplamento possibilitou o desenvolvimento de métodos que possuem maior seletividade e detectabilidade. Além disso, empregando o sistema LC-MS/MS no modo de monitoramento de reações selecionadas (SRM, do inglês *selected reaction monitoring*), problemas de co-eluição são minimizados, porque apenas o íon de interesse é selecionado (CHIARADIA *et al.*, 2008; LANÇAS, FERNANDO M, 2009). A seguir, estão descritos os principais parâmetros do sistema cromatográfico LC-MS/MS que foram avaliados para a determinação dos analitos em estudo.

5.7.1. Preparo da fase móvel

Acetonitrila e metanol foram preparados individualmente, filtrados a vácuo através de membranas de nylon 0,45 μm . A água ultrapura e os solventes foram desgaseificados em ultrassom durante 30 min, à temperatura ambiente (21 °C). A fase móvel foi armazenada em frascos próprios para solventes e rotulada.

5.7.2. Escolha da composição e vazão da fase móvel e modo de eluição

Na cromatografia líquida, para uma separação específica, deve-se levar em consideração a natureza química das substâncias que vão ser separadas, assim como a viscosidade e a polaridade da fase móvel (COLLINS *et al.*, 2006). Devido à diferença de polaridade dos analitos, a determinação da composição da fase móvel envolveu a comparação entre diferentes proporções de metanol e água ultrapura e o uso de ácido acético e fórmico como modificadores orgânicos. A escolha da fase móvel adequada foi realizada comparando a resposta do instrumento e a resolução cromatográfica dos picos entre os eluentes.

Modos de eluição isocrático e gradiente foram avaliados durante o desenvolvimento da separação cromatográfica. A escolha da vazão da fase móvel foi baseada na separação cromatográfica das soluções padrões, testando-se vazões entre 0,2 e 0,4 mL min⁻¹.

5.7.3. Condições do espectrômetro de massas

A MS/MS é a técnica espectrométrica que, ao invés de utilizar apenas um analisador de massas para separar os íons de mesma razão m/z gerados na fonte de ionização, utiliza dois estágios de espectrometria de massas (MS₁ e MS₂). Esta técnica é amplamente empregada na detecção de compostos presentes em baixas concentrações em matrizes complexas, acoplada à cromatografia, uma vez que possibilita um aumento na detectabilidade e reduz a interferência espectral de compostos presentes na matriz (CHIARADIA *et al.*, 2008). Além disso, uma melhora na detectabilidade pode ser obtida usando

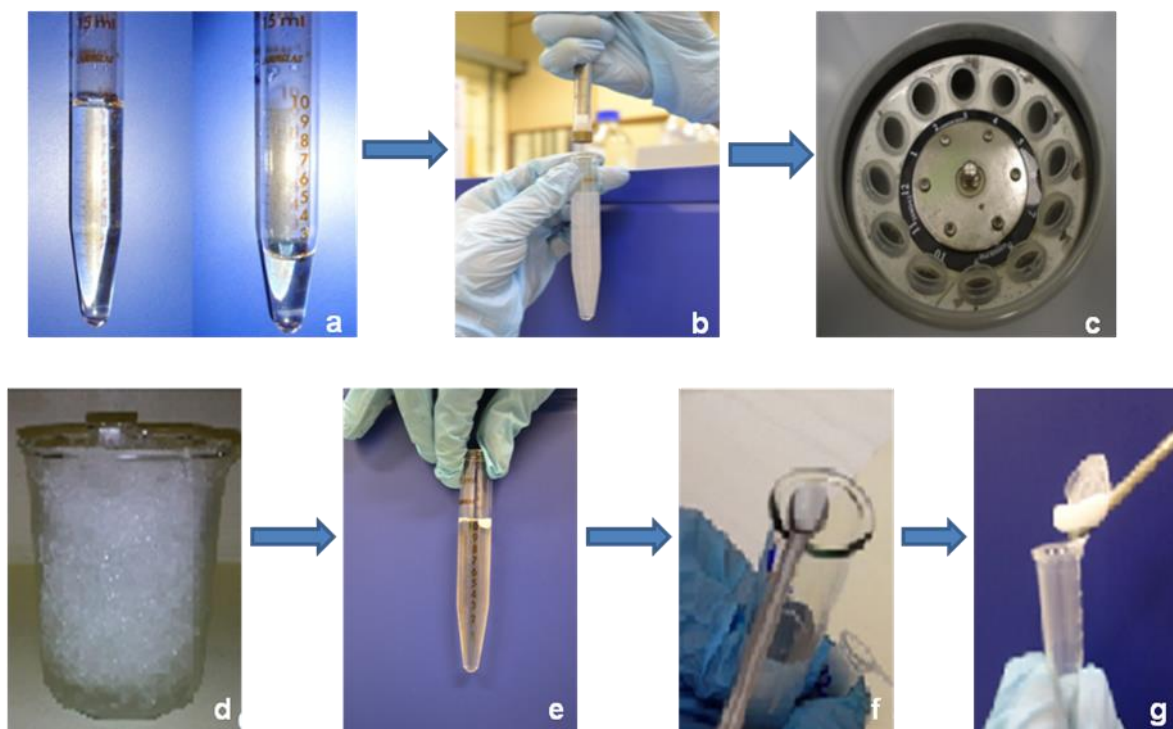
detectores modernos ou otimizando os parâmetros de fragmentação (KOSTIĆ *et al.*, 2013).

A fim de avaliar as condições dos parâmetros de fragmentação dos analitos, foram realizadas infusões diretas das soluções padrões individuais, com concentração de $1,0 \text{ mg L}^{-1}$, no espectrômetro de massas. Nesta etapa foi ajustado o modo de ionização (eletrospray positiva ou negativa); a voltagem do cone para selecionar o íon precursor, a energia de colisão para fragmentar o íon precursor e gerar íons produtos; a temperatura da fonte de ionização; a temperatura e a vazão do gás de dessolvatação para secagem do solvente e a voltagem do capilar.

5.8. Avaliação da técnica de DLLME-SFO para extração de agrotóxicos e PPCPs em amostras de água

Os experimentos realizados durante a escolha das melhores condições para a extração de agrotóxicos e PPCPs empregando DLLME-SFO seguiram as etapas descritas na Figura 10, onde são ilustradas as principais etapas do procedimento de extração. Todas as etapas foram realizadas em triplicata e cada replicata foi injetada 3 vezes no LC-MS/MS.

Figura 10 – Esquema da DLLME - SFO. (a) amostra de água e mistura dos solventes extratores e dispersores (b) adição da mistura dos solventes e formação da solução turva (c) centrifugação (d) banho de gelo (e) solidificação da gota orgânica (f) retirada da gota orgânica solidificada com auxílio de uma espátula (g) eppendorf com a gota orgânica solidificada



5.8.1. Seleção do solvente extrator e dispersor

Entre os solventes com a menor densidade do que a água, 1-dodecanol (DDC) e 1-undecanol (UDC) foram testados com o objetivo de escolher a melhor combinação de mistura do solvente extrator e dispersor apropriado para a DLLME-SFO. Para a escolha do solvente, foram realizados experimentos utilizando 10 mL de amostra de água da torneira fortificada com $5 \mu\text{g L}^{-1}$, $100 \mu\text{L}$ do solvente extrator combinado individualmente com 1 mL de cada um dos seguintes solventes dispersores: acetonitrila, acetona e metanol. A concentração de $5 \mu\text{g L}^{-1}$ foi escolhida para os testes de otimização da DLLME-SFO em função da detectabilidade dos analitos. Na Tabela 5 são apresentadas as densidades, ponto de fusão e solubilidades dos solventes avaliados.

Tabela 5 - Propriedades físico-químicas para os solventes estudados (CETESB)

Solventes	Solubilidade em água (g L ⁻¹)	Densidade (g mL ⁻¹)	Ponto de ebulição (°C)	Constante dielétrica	Log Kow
Extratores					
dodecanol	0,004	0,831	259	n.e*	5,13
1-undecanol	Insolúvel	0,8298	243	2,0	4,38
Dispersores					
acetona	Solúvel	0,791	56	20,7	-0,24
metanol	Solúvel	0,79	64,5	32,6	-0,77
acetonitrila	Solúvel	0,786	82	37,5	-0,34

*n.e – não encontrado

5.8.2. Escolha do volume de solvente extrator

Para a escolha do volume de solvente extrator, foram estudados os volumes de 70, 90, 100 e 110 µL de dodecanol. Nesta avaliação, foi utilizado 10 mL de amostra (água da torneira) fortificada com 5 µg L⁻¹, 500 µL de metanol (solvente dispersor).

5.8.3. Escolha do volume de solvente dispersor

Durante a avaliação do volume de solvente dispersor, foram avaliados os volumes de 250, 500, 1500 e 2000 µL de metanol. Nesta avaliação, foi utilizado 10 mL de amostra (água da torneira) fortificada com 5 µg L⁻¹, 100 µL de dodecanol (solvente extrator).

5.8.4. Efeito do pH

O efeito do pH na extração foi avaliado em pH 2, 6 e 12. O pH das amostras foi ajustado com ácido fosfórico 1:1 (v/v) quando necessária acidificação, ou com hidróxido de sódio 1 mol L⁻¹ quando necessário aumento no valor de pH. Nesta avaliação, foi utilizado 10 mL de amostra (água da torneira) fortificada com 5 µg L⁻¹, 100 µL de dodecanol (solvente extrator) e 500 µL de metanol (solvente dispersor)

5.8.5. Adição de sal

Para o estudo do sal na eficiência da extração, foram avaliados o sulfato de magnésio (MgSO_4), cloreto de sódio (NaCl) e sulfato de amônio $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. Estes foram adicionados em 10 mL de amostra na proporção de 1% (m/v). Nesta avaliação, foi utilizado 10 mL de amostra (água da torneira) fortificada com $5 \mu\text{g L}^{-1}$, amostra pH 4, 100 μL de dodecanol (solvente extrator) e 500 μL de metanol (solvente dispersor).

5.9. Avaliação da técnica de IL-DLLME para extração de agrotóxicos e PPCPs em amostras de água

5.9.1. Seleção do solvente extrator e dispersor

Foram testados os líquidos iônicos $[\text{C}_4\text{MIM}][\text{PF}_6]$ e $[\text{C}_6\text{MIM}][\text{PF}_6]$ como solventes extratores combinados individualmente com os seguintes dispersores: acetonitrila, acetona e metanol. Foram testados com o objetivo de escolher a melhor combinação de mistura do solvente extrator e dispersor apropriado para a IL-DLLME. Para a escolha da mistura dos solventes foram realizados experimentos utilizando 10 mL de amostra de água da torneira fortificada com $5 \mu\text{g L}^{-1}$, 100 μL do solvente extrator combinado individualmente com 1000 μL de cada um dos solventes dispersores.

5.9.2. Escolha do volume de solvente extrator

Para a escolha do volume de solvente extrator, foram estudados os volumes de 75, 100 e 150 μL de $[\text{C}_6\text{MIM}][\text{PF}_6]$. Nesta avaliação, foi utilizado 10 mL de amostra (água da torneira) fortificada com $5 \mu\text{g L}^{-1}$, 500 μL de metanol (solvente dispersor).

5.9.3. Escolha do volume de solvente dispersor

Durante a avaliação do volume de solvente dispersor, foram avaliados os volumes de 250, 500 e 1500 μL de metanol. Nesta avaliação, foi utilizado 10 mL de amostra (água da torneira) fortificada com 5 $\mu\text{g L}^{-1}$, 100 μL de $[\text{C}_6\text{MIM}][\text{PF}_6]$ (solvente extrator).

5.9.4. Efeito do pH

O efeito do pH na extração foi avaliado em pH 2, 4 e 6. O pH das amostras foi ajustado com ácido fosfórico 1:1 (v/v) quando necessária acidificação, ou com hidróxido de sódio 1 mol L^{-1} quando necessário aumento no valor de pH. Nesta avaliação, foi utilizado 10 mL de amostra (água da torneira) fortificada com 5 $\mu\text{g L}^{-1}$, 100 μL de $[\text{C}_6\text{MIM}][\text{PF}_6]$ (solvente extrator) e 500 μL de metanol (solvente dispersor)

5.9.5. Adição de sal

Para o estudo do sal na eficiência da extração, foram avaliados o sulfato de magnésio (MgSO_4) e sulfato de amônio $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. Estes foram adicionados em 10 mL de amostra na proporção de 1% (m/v). Nesta avaliação, foi utilizado 10 mL de amostra (água da torneira) fortificada com 5 $\mu\text{g L}^{-1}$, amostra pH 4, 100 μL de $[\text{C}_6\text{MIM}][\text{PF}_6]$ (solvente extrator) e 500 μL de metanol (solvente dispersor).

5.10. Validação dos métodos

O laboratório necessita garantir a qualidade e confiabilidade dos resultados em qualquer método analítico. Então, se faz necessário a validação para garantir que os métodos executados conduzam a resultados confiáveis e adequados à qualidade pretendida (LÓPEZ *et al.*, 2015). A validação de um método é uma exigência na prática das análises químicas. Esta tem por objetivo verificar a aptidão do método para a finalidade pretendida, comprovando através de estudos experimentais que os requisitos para uma aplicação ou uso específico são confiáveis (ANVISA, 2003; LATTANZIO *et al.*, 2016)

Os métodos foram validados avaliando as seguintes figuras de mérito: limite de detecção (LOD, do inglês *Limit of Detection*), limite de quantificação (LOQ, do inglês *Limit of Quantification*), curvas analíticas (calibração externa no solvente, superposição na matriz e curva trabalho) e linearidade, exatidão (recuperação), precisão (repetitividade e precisão intermediária) e efeito matriz (EM). Estes parâmetros são sugeridos para validação de métodos analíticos pelo Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial – INMETRO (INMETRO, 2011), ANVISA (ANVISA, 2003) (ANVISA, 2003) e pelo guia de validação para análise de resíduos de pesticidas em alimentos da Comissão Europeia (SANTE, 2015) .

5.11. Limite de Detecção e Quantificação

O LOD e LOQ do instrumento (LOD_i e LOQ_i) para cada composto foi estimado a partir da relação sinal/ruído (s/n) calculada pelo *software* do equipamento, considerando no mínimo 3 e 10 vezes a razão do sinal pela linha de base (ruído), respectivamente. Os limites instrumentais foram obtidos através de padronização por sobreposição na matriz, pelo preparo de soluções analíticas de diferentes concentrações no extrato branco da matriz.

Como o método da IL-DLLME e da DLLME-SFO apresentam um fator de concentração de 20 vezes respectivamente, o LOD do método (LOD_m) e o LOQ do método (LOQ_m) foram calculados dividindo o limite de detecção e o limite de quantificação do instrumento pelo fator de concentração de cada método. Os valores obtidos foram confirmados experimentalmente, e foram considerados como verdadeiros, quando a amostra ao ser fortificada nestas concentrações apresentou recuperações entre 70 e 120% com RSD menor ou igual a 20% (SANTE, 2015)

5.12. Curva analítica, curva trabalho e linearidade

A linearidade do instrumento foi avaliada pela construção de curvas analíticas através de padronização externa no solvente e por padronização externa no extrato branco da matriz. A linearidade dos métodos foi avaliada pela curva trabalho, na qual as amostras de água foram fortificadas em cada nível com a solução padrão dos analitos, passando então pela etapa de

preparo de amostra otimizada e em seguida analisada por LC-MS/MS. Esta curva é aplicada na validação dos métodos e nos cálculos de recuperação.

Para a construção das curvas analíticas e trabalho, foram preparados três conjuntos de soluções:

Conjunto 1 - Soluções preparadas através de diluições da solução padrão de trabalho no solvente (metanol);

Conjunto 2 - Soluções preparadas a partir de diluições da solução padrão de trabalho no extrato branco da matriz (água de abastecimento público), extraído por DLLME-SFO e IL-DLLME (pós fortificação);

Conjunto 3 - Soluções obtidas a partir da extração das amostras de água fortificadas com a solução padrão de trabalho (pré -fortificação);

Os conjuntos das soluções 1 e 2 foram utilizados para calcular o EM. E o conjunto de soluções 3 foi utilizado para calcular as recuperações.

Cada solução foi injetada três vezes, e cada curva teve no mínimo 5 níveis de concentração. Os dados de regressão linear foram obtidos com auxílio do *software* (Masslynx 4.0 Waters) do equipamento. A partir destes dados foi avaliado o coeficiente de correlação linear (r).

5.13. Exatidão

Para o estudo da exatidão do método, foram utilizados ensaios de recuperação, de acordo com as determinações do INMETRO e do SANTE (INMETRO, 2011; SANTE, 2015). Foram realizadas fortificações das amostras “branco” em diferentes níveis de concentração. As recuperações foram avaliadas em no mínimo três níveis para cada analito. As concentrações avaliadas foram 0,25; 0,5; 1,25; 2,5; 12,5; 25 $\mu\text{g L}^{-1}$. As amostras foram fortificadas e submetidas ao processo de extração pelos métodos da DLLME-SFO e IL-DLLME. As extrações referentes a cada nível de concentração foram realizadas em triplicata e cada extrato foi injetado três vezes no LC-MS/MS.

Para determinar as concentrações, substituiu-se os valores de área encontrados em cada nível na equação da curva trabalho. Para calcular as recuperações, substituiu-se os valores de concentração na equação 4:

$$\text{Recuperação (\%)} = \left(\frac{C1 - C2}{C3} \right) \times 100 \quad (4)$$

sendo:

C1= concentração do analito na amostra fortificada;

C2= concentração do analito na amostra não fortificada;

C3= concentração do analito adicionada à amostra fortificada.

5.14. Precisão

A precisão do método foi avaliada em função da repetibilidade e da precisão intermediária. Para a repetibilidade, as amostras foram fortificadas em diferentes níveis de concentração em triplicata, seguindo todo o procedimento de extração para os métodos da DLLME-SFO e IL-DLLME, e injetadas em triplicata no mesmo dia, pelo mesmo analista e nas mesmas condições cromatográficas. A partir das nove determinações foi calculado o desvio padrão relativo RSD (%). A precisão intermediária RSD_{pi} (%) foi realizada com a fortificação das amostras em dois níveis de concentração e o procedimento foi avaliado em diferentes dias. Para os cálculos dos RSD (%) utilizou-se a equação 5:

$$RSD(\%) = \frac{s}{X_m} \times 100 \quad (5)$$

Onde:

s = estimativa do desvio padrão absoluto;

X_m = média de uma série de medidas (replicatas).

5.15. Efeito Matriz (EM)

Métodos analíticos desenvolvidos por LC-MS/MS oferecem a ferramenta para identificação e quantificação dos compostos orgânicos em todos os tipos de amostras. Entretanto, uma das principais desvantagens dos métodos desenvolvidos por LC-MS/MS é a sua susceptibilidade para o EM, que é a

supressão ou o enriquecimento do sinal analítico devido a co-eluição dos componentes da matriz, gerando uma avaliação errônea dos resultados (WICK *et al.*, 2010).

A investigação do EM deve ser realizada e compensada na validação do método, uma vez que, a exatidão e a precisão das análises podem sofrer influência da matriz. A avaliação do EM pode ser realizada pela comparação das curvas de calibração externa no solvente pela sobreposição na matriz (ECONOMOU *et al.*, 2009). Matuszewski *et al* (2003) avaliaram o EM comparando áreas obtidas das soluções analíticas no solvente e aquelas obtidas com soluções analíticas preparadas nos extratos das matrizes (MATUSZEWSKI *et al.*, 2003) .

O EM foi avaliado na validação dos métodos, utilizando a água da torneira como matriz, o EM foi calculado pela comparação entre as inclinações das curvas analíticas obtidas das soluções analíticas em solvente e daquela obtidas com soluções analíticas preparadas no extrato da matriz. O cálculo foi efetuado através da equação 6:

$$EM(\%) = \frac{\text{inclinação}(X1) - \text{inclinação}(X2)}{\text{inclinação}(X2)} \times 100 \quad (6)$$

onde:

X1= inclinação da curva obtida pela injeção das soluções analíticas de cada analito, preparada no extrato da matriz (água da torneira);

X2 = inclinação da curva obtida pela injeção das soluções analíticas de cada analito, preparada no solvente (metanol);

Quando os valores encontrados para o efeito matriz estiverem entre -20 e +20%, considera-se que o efeito matriz é baixo; se estiverem entre -50 e -20% ou entre +20 e +50% é considerado médio; e se os valores encontrados forem abaixo de -50% ou acima de +50%, o efeito matriz é considerado alto (ECONOMOU *et al.*, 2009).

5.16. Quantificação das amostras

Na etapa de desenvolvimento, as recuperações foram calculadas através da relação entre as áreas dos padrões no solvente com as áreas dos analitos obtidas após extração. Na validação dos métodos, a exatidão foi calculada utilizando a curva trabalho, concentrações conhecidas da mistura dos padrões foram adicionadas na amostra em pelo menos 5 níveis de concentrações e também foram realizadas fortificações das amostras no nível do LOQ, 5LOQ e 10LOQ de cada analito. Através da equação da reta da curva trabalho ($y = ax + b$) na qual o valor de y foi substituído pelo valor de área obtido em cada nível se obteve o valor de concentração que foi extraído, fazendo a relação com a concentração que foi adicionada se obteve o valor de recuperação.

A quantificação dos analitos na amostra foi realizada pelo método de adição padrão, no qual consiste na adição do analito de interesse em diferentes concentrações, antes do processo de extração. É gerada uma curva analítica relacionando as quantidades da substância adicionada à amostra com as respectivas áreas obtidas. O ponto onde a reta corta o eixo das ordenadas corresponde à área do pico da substância que está sendo determinada, sem qualquer adição do padrão. A extrapolação da reta define, no eixo das abcissas, a concentração da substância na amostra analisada, sempre levando em conta o fator de pré-concentração (RIBANI *et al.*, 2004; GONCALVES *et al.*, 2016).

5.17. Tratamento estatístico dos dados

Para avaliação dos resultados de recuperação durante a otimização do método, foram realizadas análises de variância (ANOVA), com teste de *post-hoc* de Tukey realizado com o auxílio do programa Statistica[®], versão 5.0 - Statsoft Inc.

6. RESULTADOS E DISCUSSÕES

6.1. Avaliação das melhores condições de detecção no espectrômetro de massas

As condições de detecção no espectrômetro de massas utilizadas neste trabalho foram otimizadas no trabalho de Barbosa, 2015 (BARBOSA, 2015).

A Tabela 6 apresenta, os agrotóxicos e PPCPs monitorados por LC-MS/MS no modo de ionização (ESI+ e ESI-), os íons precursores e íons produtos, modo de aquisição SRM. Para cada analito, foram selecionadas duas transições características, o fragmento mais intenso (mais estável) foi utilizado para a quantificação e o segundo mais intenso para a identificação dos mesmos. A voltagem do cone, a energia de colisão e o tempo de retenção dos analitos também são apresentados na Tabela 6.

Tabela 6 - Agrotóxicos e PPCPs quantificados por LC-MS/MS, modo de ionização, transições monitoradas, energia do cone e voltagem de colisão

Analitos	Modo ESI	Transição (m/z)	Cone (V)	Colisão (eV)	t _r (min)
PPCPs					
albendazol	+	266>234 ^a	30	20	13,95
		266>191	33	32	
amitriptilina	+	278,3>233,3 ^a	35	15	14,39
		278,3>116,9	35	15	
bisfenol A	-	227>212,2 ^a	43	19	13,20
		227>133	43	25	
carbamazepina	+	237>194,1 ^a	26	12	11,39
		237>167,4	35	40	
cloridrato de ditalzem	+	415>310	35	20	12,55
		415>178 ^a	35	20	
diclofenaco de sódio	-	294>250,2 ^a	20	10	16,57
		294>214	20	25	
furosemida	-	328,8>284,9 ^a	30	15	10,18
		328,8>205	30	20	
genfibrozila	-	249>121 ^a	20	30	18,14
glibenclamida	+	494>369	30	18	16,28
		494>169 ^a	30	38	
haloperidol	+	376>165 ^a	30	21	12,84
		376>123	35	25	
mebendazol	+	296,2>264,2	35	30	12,85
		296,2>104,9 ^a	35	30	
nimesulida	-	307>229 ^a	33	20	13,43
		307>198,1	30	25	

Analitos	Modo ESI	Transição (m/z)	Cone (V)	Colisão (eV)	t _r (min)
nifedipino	+	347,4>315,2 ^a	20	8	13,23
		347,4>271,3	20	8	
nitrato de miconazol	+	417,1>161 ^a	45	25	18,91
		417,1>159	45	30	
propranolol	+	260>116 ^a	30	18	9,19
		260>183	30	20	
propilparabeno	-	179,1>137,1	30	15	12,68
		179,1>91,8 ^a	30	20	
triclocarban	-	313>160,1 ^a	30	25	17,20
		315>125,7	30	15	
triclosan	-	289>35	18	7	18,54
		287>35 ^a	18	9	
Agrotóxicos					
2,4-D	-	219>161 ^a	15	20	12,32
		219>89	15	30	
atrazina	+	216>174 ^a	33	20	12,28
		216>146	35	22	
atrazina-d5	+	220,9>179 ^a	33	17	12,37
		220,9>101	33	21	
azoxistrobina	+	404>372 ^a	20	20	14,55
		404>329	15	30	
carbofurano	+	222>165	20	25	10,11
		222>123 ^a	20	25	
carbofurano-d3	+	225>121,1 ^a	20	25	10,85
		225>140,5	20	25	
ciproconazol	+	292>125	35	20	15,31
		292>70 ^a	35	20	
clomazona	+	240>125 ^a	30	20	13,32
		240>219	26	20	
diclorana	-	205>175,2 ^a	40	15	12,96
		205>138,9	40	20	
difenoconazol	+	406>251 ^a	31	32	17,90
		406>337	32	20	
diuron	+	233>72 ^a	28	20	12,75
		233>160	28	25	
diuron-d6	+	239,33>78,1 ^a	29	15	13,04
		239,33>52,1	29	17	
epoxiconazol	+	330>123	27	30	15,95
		330>121 ^a	27	30	
fenoxaprope-p-etílico	+	362,1>288,1 ^a	22	23	18,52
		362,1>121	22	37	
fipronil	-	435>330 ^a	30	15	16,48
		435>250	25	26	
Iprodiona	+	330>101	20	33	15,91
		330>143,2	20	21	
irgarol	+	254>108	30	30	15,31
		254>198 ^a	30	19	
malationa	+	331>199	24	30	15,04
		331>127 ^a	24	10	

Analitos	Modo ESI	Transição (m/z)	Cone (V)	Colisão (eV)	t _r (min)
penoxsulam	-	482>109	35	40	12,11
		482>179 ^a	35	25	
piraclostrobina	+	388,1>194	20	19	17,51
		388,1>163 ^a	20	19	
propanil	+	218>127 ^a	25	28	14,21
		218>162	30	14	
propiconazol	+	342>159 ^a	32	22	16,89
		342>69	30	20	
tebuconazol	+	308>70 ^a	40	20	16,72
		308>125	28	22	
trifloxistrobina	+	409>206	35	15	18,22
		409>145 ^a	25	40	

^a transições empregadas para a quantificação

6.2. Condições do sistema cromatográfico LC-MS/MS para determinação de agrotóxicos e PPCPs em amostras de água

As condições do sistema cromatográfico LC-MS/MS utilizadas neste trabalho já tinham sido otimizadas no trabalho de Barbosa, 2015 (BARBOSA, 2015).

Na tabela 7 é apresentado o gradiente de eluição utilizado.

Tabela 7 - Condições de eluição empregadas no modo gradiente

Tempo (min)	Água com 0,1% ácido acético (v/v)	Metanol (%)	Vazão (mL min⁻¹)
0	80	20	0,2
20	10	90	0,4
23	10	90	0,4
23,5	80	20	0,2
30	80	20	0,2

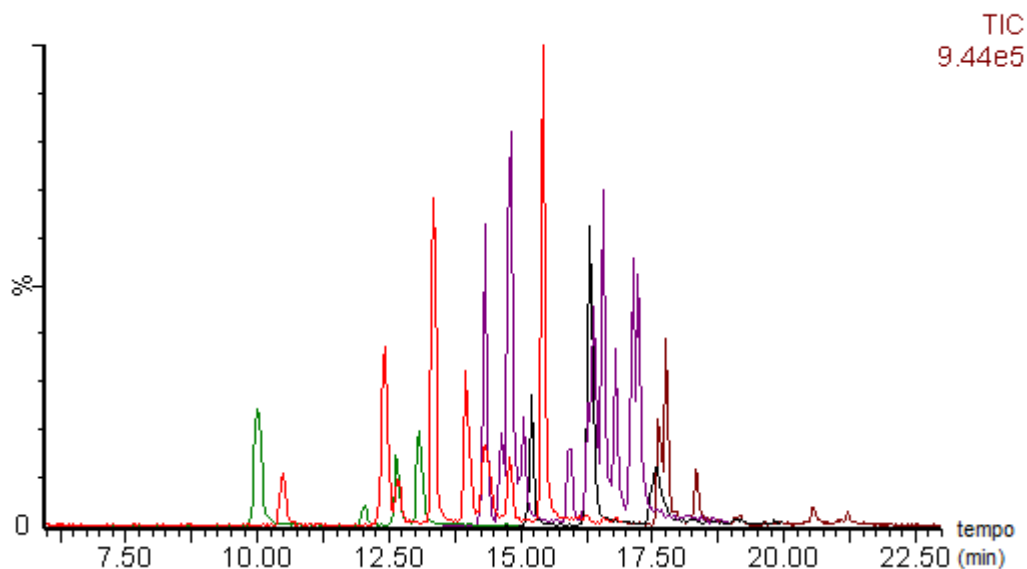
Na Tabela 8, são apresentadas as condições cromatográficas resumidas empregadas para determinação dos agrotóxicos e PPCPs avaliados neste estudo.

Tabela 8 - Condições empregadas no sistema cromatográfico LC-MS/MS

Parâmetros	LC-MS/MS
Coluna analítica	Kinetex C8 (50 x 3,0 mm, 2,6 µm)
Fase móvel	Água 0,1% (v/v) ácido acético (A) e metanol (B)
Volume de injeção	10 µL
Fonte de ionização	ESI
Detector	Espectrômetro de massas do tipo triplo quadrupolo

Na figura 11, podemos observar os cromatogramas de íons no modo total (TIC) das funções monitoradas conforme condições descritas na Tabela 7. Concentração da mistura de 1000 µg L⁻¹.

Figura 11 - Sobreposição dos cromatogramas de íons no modo total (TIC) funções monitoradas para eluição no modo gradiente conforme condições descritas na Tabela 7. Concentração da mistura de $1000 \mu\text{g L}^{-1}$.



6.3. DLLME-SFO

6.3.1. Escolha dos solventes extratores e dispersores

Neste trabalho o 1-undecanol e o 1-dodecanol foram utilizados como solventes extratores enquanto acetonitrila, metanol e acetona foram utilizados como solventes dispersores. O primeiro teste foi verificar se ocorreria a formação da gota orgânica e a solidificação com a combinação destes solventes.

O teste foi realizado utilizando um volume de $100 \mu\text{L}$ de cada solvente extrator (1-undecanol e o 1-dodecanol) e 2 mL de metanol como solvente dispersor. Como pode ser observado na Figura 12, os diferentes alcoóis não apresentaram muita diferença na extração dos compostos. Em geral, esses alcoóis de cadeia longa apresentam afinidades similares na extração dos compostos (ZHENG *et al.*, 2011).

Estes resultados foram submetidos ao teste de Tukey comparando-se as áreas dos picos obtidas em cada condição testada para verificar a diferença significativa entre os dados. O teste de Tukey permite comparar as diferenças entre um conjunto de médias resultantes de uma extração, pois o mesmo leva em consideração o RSD, o qual é muito difícil de ser avaliado visualmente. Como podemos observar na Tabela 9, a metade dos compostos não apresentaram diferença significativa em relação aos solventes utilizados com exceção nifepidino, atrazina, azoxistrobina, diclorana, diuron, epoxiconazol, fenoxaprope-p-etílico, irgarol, propanil, propiconazol, tebuconazol, e trifloxistrobina, que mostraram diferenças significativas entre os solventes extratores e dispersores ($p < 0,05$). O composto 2,4-D não recuperou em nenhuma condição. Isso ocorreu porque estes testes foram realizados no pH da amostra (6,6) e nessa faixa de pH este composto não é extraído devido ao valor de seu pKa. Neste trabalho a mistura de 1-dodecanol e metanol foi selecionada para experimentos subsequentes, em virtude, do 1-dodecanol necessitar de um tempo menor para solidificação da gota orgânica flutuante do que o 1-undecanol uma vez que o ponto de fusão do 1-undecanol (15°C) é menor do que o do dodecanol (24 °C). Além disso, o 1-dodecanol apresenta um custo menor do que o 1-undecanol e proporcionou a formação de uma gota orgânica flutuante mais uniforme o que facilita a manipulação da mesma.

De maneira geral, a combinação 1-dodecanol e metanol apresentou os melhores resultados, recuperações acima de 50% foram obtidas para 16 compostos com RSD menores que 14%. O 1-dodecanol apresentou 8 e 6 compostos com recuperações acima de 50% quando combinado com acetonitrila e acetona, respectivamente com RSD menores que 15%.

A mistura 1-dodecanol e metanol tem sido empregada em diversos trabalhos. Na DLLME-SFO, para extração de agrotóxicos organofosforados em amostras de águas foram utilizados 15 µL de dodecanol e 200 µL de metanol foram obtidas recuperações entre 82 e 104% com RSDs menores que 6,3% (WU *et al.*, 2010)

Fungicidas triazóis também foram extraídos com sucesso utilizando a mistura 1-dodecanol e metanol. Os quatro triazóis miclobutanil, tebuconazol, triadimenol e hexaconazol foram extraídos empregando a DLLME-SFO com 12

μL de dodecanol e 200 μL de metanol, atingindo recuperações entre 84 e 110% com RSDs menores que 5,7% (WANG, C. *et al.*, 2011). Também, na extração por DLLME-SFO foi empregada a mistura de 60 μL do dodecanol e 440 μL de metanol para extração de fármacos em urina e os valores de recuperações foram de aproximadamente 100% com RSD menores que 12% (JIA *et al.*, 2013).

Figura 12 - Efeito do tipo do solvente extrator e dispersor na DLLME -SFO na recuperação de agrotóxicos e PPCPs em água potável. Condições de extração: 10 mL de amostra fortificada com $5 \mu\text{g L}^{-1}$; pH da amostra: 6,6; volume do solvente extrator: 100 μL ; solvente dispersor: 2 mL; centrifugação: 4000 rpm por 5 min. As barras de erros indicam valores de RSD.

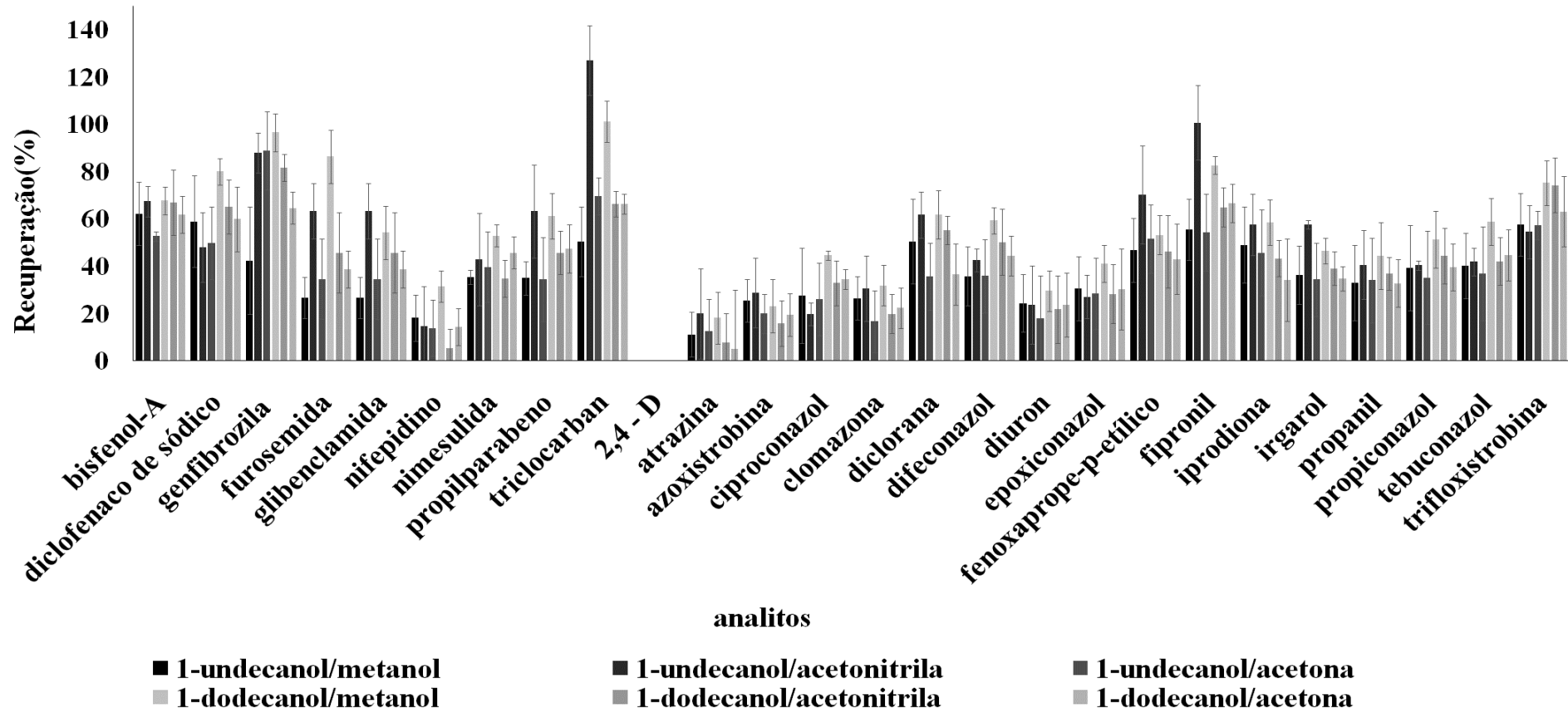


Tabela 9 - Resultados em área após extração por DLLME-SFO com diferente combinações de solvente extratores e dispersores

analitos	undecanol- metanol	undecanol- acetonitrila	undecanol- acetona	1-dodecanol- metanol	1-dodecanol - acetonitrila	1-dodecanol – acetona
PPCPs						
bisfenol-A	226109 ^a	255827 ^a	194317 ^a	241319 ^a	161886 ^a	210187 ^a
diclofenco sódico	1272790 ^a	2027991 ^a	1217301 ^a	1600592 ^a	1317878 ^a	1577748 ^a
genfibrozila	5602393 ^a	9461707 ^a	4927234 ^a	4531710 ^a	3826399 ^a	4004068 ^a
furosemida	72730 ^a	45859 ^a	48287 ^a	77944 ^a	39818 ^a	46054 ^a
glibenclamida	3875689 ^a	5988791 ^a	3599232 ^a	4237465 ^a	3109808 ^a	3728236 ^a
nifepidino	1130495 ^a	1203187 ^a	481109 ^b	1072501 ^a	383092 ^b	794426 ^{ab}
nimesulida	4744631 ^a	4804774 ^a	4138226 ^a	4644445 ^a	3064296 ^a	4505380 ^a
propilparabeno	1049854 ^a	786139 ^a	858602 ^a	1110071 ^a	786139 ^a	1142380 ^a
triclocarban	6081587 ^a	11837846 ^a	6969883 ^a	8036461 ^a	5944738 ^a	6485069 ^a
agrotóxicos						
2,4-D	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.
atrazina	651739 ^a	600440 ^a	475365 ^{a,b}	554140 ^a	278960 ^b	420102 ^{a,b}
azoxistrobina	8626729 ^{b,c}	8992934 ^c	5842624 ^{a,b}	7996145 ^{a,b,c}	5335775 ^a	6728467 ^{a,b,c}

analitos	undecanol- metanol	undecanol- acetoneitrila	undecanol- acetona	1-dodecanol- metanol	1-dodecanol - acetoneitrila	1-dodecanol – acetona
ciproconazole	7178934 ^a	6442673 ^a	5878488 ^a	7078015 ^a	4899712 ^a	6842080 ^a
clomazona	12755907 ^a	13073375 ^a	8571455 ^a	10275415 ^a	7763365 ^a	11570108 ^a
diclorana	41645 ^{a,b}	51107 ^b	42045 ^{a,b}	73068 ^c	23619 ^a	39602 ^{a,b}
difenoconazol	25018528 ^a	43322742 ^a	18478174 ^a	26352821 ^a	21199287 ^a	197777166 ^a
diuron	1032389 ^a	1146588 ^a	951821 ^a	819207 ^{a,b}	423764 ^b	928003 ^a
epoxiconazol	14376124 ^{a,b,c}	17802324 ^{b,c}	12344379 ^{a,b}	18478374 ^c	11855559 ^a	13567411 ^{a,b,c}
fenoxaprop-p- etilico	4676116 ^a	5100827 ^b	5100827 ^a	5686704 ^{a,b}	4986408 ^a	4662514 ^a
fipronil	13903190 ^a	19640377 ^a	12661962 ^a	19049657 ^a	14913392 ^a	15264078 ^a
iprodivona	2486925 ^a	2195349 ^a	2572801 ^a	2974804 ^a	2151034 ^a	2490637 ^a
irgarol	74099891 ^{a,b}	106091664 ^b	63955414 ^a	89374037 ^{a,b}	69595448 ^a	66950556 ^a
propanil	4546530 ^{a,b}	4910613 ^{a,b}	3923967 ^a	5506148 ^b	4342287 ^a	3848855 ^a
propiconazol	9205009 ^{a,b}	14080577 ^b	7807192 ^a	12917136 ^{a,b}	9673901 ^{a,b}	9135749 ^{a,b}
tebuconazol	10138418 ^{a,b}	14274356 ^c	8459434 ^a	13348279 ^{b,c}	8960322 ^a	1020960 ^{a,b}
trifloxistrobina	16441344 ^a	20426088 ^{a,b}	15647131 ^a	24553602 ^b	23419356 ^b	18380051 ^{a,b}

Médias seguidas por letras iguais, na mesma linha, não apresentam diferença estatística significativa ($p \geq 0,05$) pelo teste de Tukey com significância de 95%.

*n.e. – não extraído

6.3.2. Escolha do volume de solvente extrator

Geralmente na DLLME-SFO, os volumes de solventes extratores utilizados variam de 8 a 140 μL (XU *et al.*, 2009; REZAEI *et al.*, 2016).

Neste estudo, para avaliar o efeito do volume do solvente extrator, diferentes volumes de 1-dodecanol (70, 90, 100 e 110 μL) foram testados e submetidos ao procedimento DLLME-SFO, enquanto o volume de solvente dispersor (metanol) utilizado foi de 2 mL.

Como pode ser observado na Figura 13, com o aumento do volume do solvente extrator de 70 para 100 μL , ocorre um aumento na recuperação para todos os compostos. Porém, quando se aumenta o volume de 100 para 110 μL ocorre uma diminuição na recuperação para a maioria dos compostos, devido ao efeito da diluição. Esse comportamento também foi observado em outros estudos para determinação de HPAs em amostras de águas (XU *et al.*, 2009), na determinação de fármacos em amostras de água (PENG *et al.*, 2015) e na determinação de carotenóides em sucos de frutas (SRICHAROEN *et al.*, 2016).

Volumes maiores de solvente extrator diminuem a polaridade da amostra aquosa devido a dissolução do solvente na fase aquosa o que leva a uma diminuição do coeficiente de partição podendo levar a decréscimos na eficiência de extração dos analitos (TOLCHA *et al.*, 2013)

Os volumes de 90 e 100 μL de 1- dodecanol apresentaram as melhores respostas em termos de recuperação para os analitos. De maneira geral, o volume de 100 μL de 1-dodecanol foi o que apresentou os melhores resultados. Recuperações acima de 50% foram obtidas para 17 analitos quando utilizado o volume de 100 μL de 1- dodecanol com RSD menores que 13% e quando utilizado 90 μL de 1-dodecanol 14 analitos obtiveram recuperações maiores que 50% com RSD menores que 18%.

Além disso, quando se utiliza um volume de 100 μL de solvente extrator, ocorre a formação de uma gota orgânica flutuante mais uniforme após a solidificação.

Além disso, foi realizado um teste de Tukey para todos os resultados obtidos (Tabela 10). Para os valores entre 90 e 100 μL foi encontrada diferença significativa ($p < 0,05$) para bisfenol-A, diclofenaco sódico, genfibrozila,

furosemida, glibenclamida, nifedipino, propilparabeno, clomazona, diclorana, diuron, fipronil e propanil. Estes analitos apresentaram maiores valores de área com 100 µL do solvente extrator. Baseado nestes resultados, o valor de 100 µL foi escolhido. Este volume tem sido utilizado para extração de HPAs em amostras de água (PENG *et al.*, 2016) e na determinação de agrotóxicos benzoiluréia em amostras de solo e lodo de esgoto.

Figura 13 - Efeito do volume do solvente extrator na DLLME-SFO na recuperação de agrotóxicos e PPCPs em água potável. Condições de extração: 10 mL de amostra fortificada com $5 \mu\text{g L}^{-1}$; pH da amostra: 6,6; solvente dispersor: 2 mL; centrifugação: 4000 rpm por 5 min. As barras de erros indicam valores de RSD

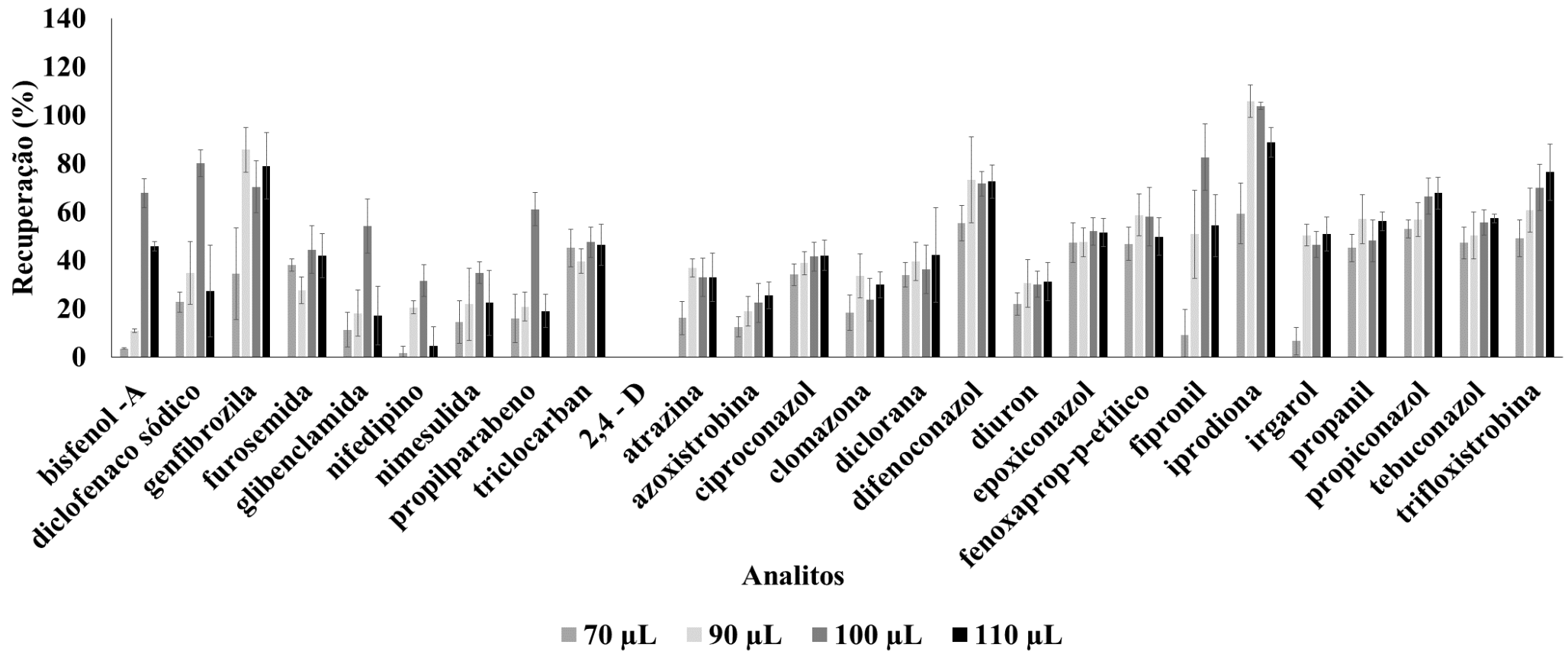


Tabela 10 - Resultados em área após extração por DLLME-SFO com diferentes volumes de solvente extrator

analitos	Volume solvente extrator			
	70 µL	90 µL	100 µL	110 µL
PPCPs				
bisfenol – A	40118 ^c	92200 ^b	250313 ^a	35803 ^c
diclofenaco sódico	32363 ^b	44098 ^b	2169285 ^a	31602 ^b
genfibrozila	1536090 ^c	4376603 ^b	6740664 ^a	4371838 ^b
furosamida	0 ^c	35973 ^{a,b}	52836 ^a	17861 ^{b,c}
glibenclamida	1869502 ^b	2243587 ^b	4919011 ^a	2020533 ^b
nifedipino	727687 ^c	1704541 ^b	2418443 ^a	2201632 ^{a,b}
nimesulida	5212158 ^b	8116843 ^a	8310423 ^a	8162799 ^a
propilparabeno	31879 ^c	54668 ^{a,b}	69929 ^a	62157 ^{a,b}
triclocarban	19315502 ^a	22964278 ^a	17941210 ^a	21271366 ^a
Agrotóxicos				
2,4-D	n.e	n.e	n.e	n.e
atrazina	1666597 ^b	3045355 ^a	3200586 ^a	2980470 ^a
azoxistrobina	6244439 ^b	11622103 ^a	10894208 ^a	13539320 ^a

Volume solvente extrator				
analitos	70 µL	90 µL	100 µL	110 µL
ciproconazol	9439969 ^a	12701706 ^a	10632854 ^a	9567021 ^a
clomazona	12633231 ^c	18658645 ^a	18102554 ^{a,b}	18076373 ^{a,b}
diclorana	128281 ^b	198483 ^a	168460 ^{a,b}	111531 ^b
difeconazol	18787531 ^a	24895312 ^a	22520920 ^a	25766947 ^a
diuron	1764626 ^c	2533010 ^a	2221523 ^{a,b}	2147454 ^b
epoxiconazol	16211211 ^a	17744222 ^a	17570432 ^a	13225235 ^a
fenoxoprop-p-etílico	5140430 ^a	6860093 ^a	6430996 ^a	5269684 ^a
fipronil	5518987 ^b	4743605 ^{b,c}	18794859 ^a	3803777 ^c
iprodiona	1440467 ^c	2514021 ^a	2545434 ^a	2020783 ^b
irgarol	370970 ^a	330086 ^a	348908,3 ^a	243053 ^b
propanil	5427512 ^c	7386086 ^a	6385523 ^b	6795298 ^{a,b}
propiconazol	10302419 ^a	13244776 ^a	12859002 ^a	13167953 ^a
tebuconazol	10302419 ^a	13244776 ^a	12859002 ^a	13161953 ^a
trifloxistrobina	13545288 ^a	17924884 ^a	17603820 ^a	17624236 ^a

Médias seguidas por letras iguais, na mesma linha, não apresentam diferença estatística significativa ($p \geq 0,05$) pelo teste de Tukey com significância de 95%.

*n.e. – não extraído

6.3.2.1. Escolha do volume de solvente dispersor

Para avaliar o efeito do volume do solvente dispersor na extração, foram avaliados os volumes de 250, 500, 1500 e 2000 μL de metanol contendo 100 μL de 1-dodecanol (Figura 14).

Empregando um volume de 250 μL de solvente dispersor a maioria dos analitos não foram extraídos. Com um volume de 500 μL , houve um aumento na recuperação para todos os analitos, porém quando se passa de 500 para 1500 μL ocorre à diminuição na recuperação para todos os compostos. Menores volumes de solvente dispersor podem não ser adequados para a dispersão do solvente extrator na amostra aquosa, resultando numa menor área de contato entre o solvente extrator e a amostra. No entanto, volumes maiores podem acarretar no aumento da solubilidade de alguns analitos, dificultando a partição dos analitos para o solvente orgânico, e consequentemente acarretando em uma menor eficiência de extração (LEONG *et al.*, 2009; TOLCHA *et al.*, 2013; SEEBUNRUENG *et al.*, 2014).

Esse mesmo comportamento também foi observado no estudo de Hou e colaboradores (2013) na determinação dos compostos fenólicos em água. Volumes de metanol menores que 500 μL apresentaram decréscimo na recuperação dos compostos, devido ao fato destes volumes serem insuficientes para a formação da solução turva. No entanto, volumes de metanol superiores a 500 μL apresentaram decréscimo na recuperação dos analitos por aumentar a solubilidade dos analitos em água (HOU *et al.*, 2013).

Foi realizado um teste de Tukey para todos os resultados obtidos (Tabela 11), para verificar se havia diferença significativa no volume do solvente dispersor e foi encontrada diferença significativa ($p < 0,05$) para todos os analitos. Estes analitos apresentaram maiores valores de área com 500 μL . Baseado nestes resultados, o valor de 500 μL foi escolhido.

Figura 14 - Efeito do volume do solvente dispersor na DLLME-SFO na recuperação de agrotóxicos e PPCPs em água potável. Condições de extração: 10 mL de amostra fortificada com $5 \mu\text{g L}^{-1}$; pH da amostra: 6,6; solvente extrator: $100 \mu\text{L}$; centrifugação: 4000 rpm por 5 min. As barras de erros indicam valores de RSD

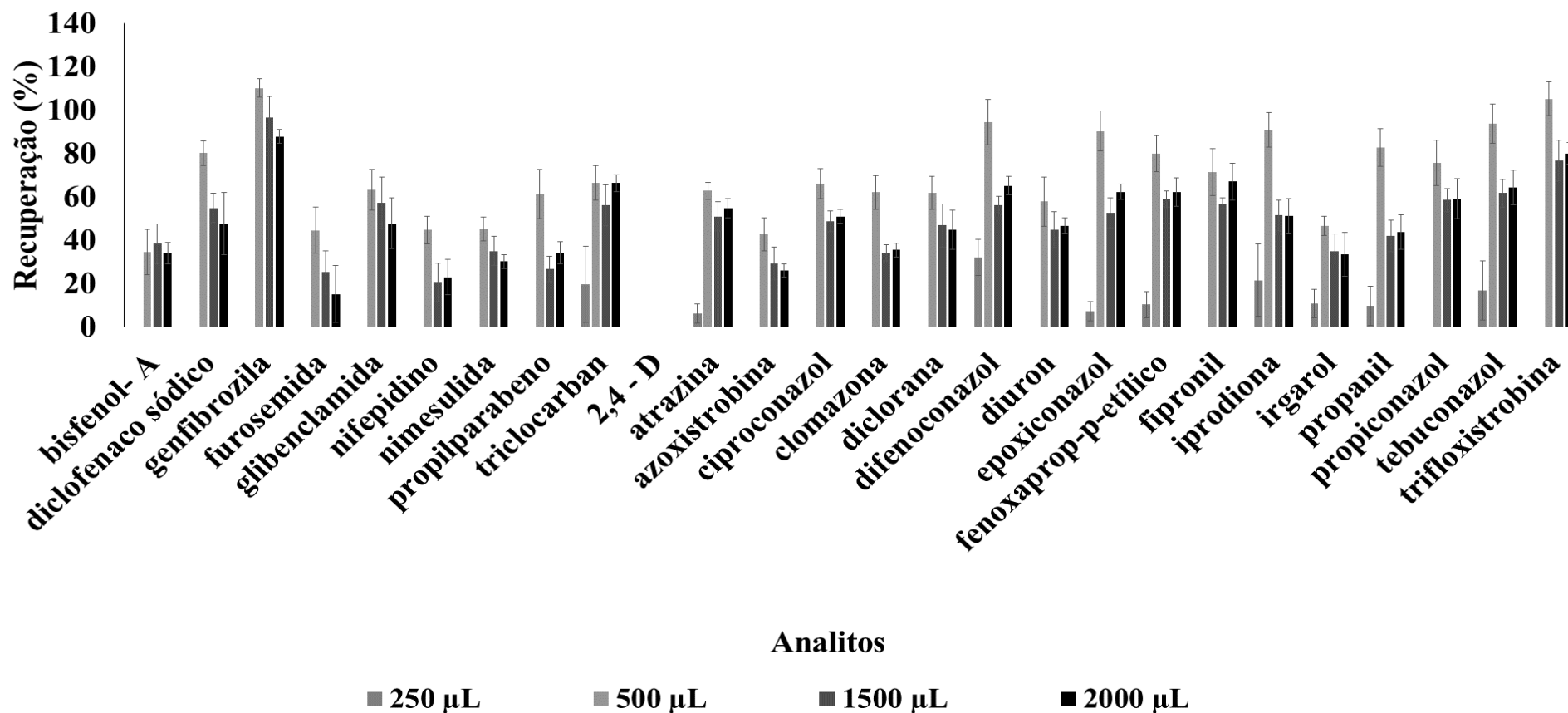


Tabela 11 - Resultados em área após extração por DLLME-SFO com diferentes volumes de solvente dispersor

analitos	Volume do solvente dispersor			
	250 µL	500 µL	1500 µL	2000 µL
<i>PPCPs</i>				
bisfenol – A	61249 ^c	5027153 ^a	2496998 ^b	2531900 ^b
diclofenaco sódico	n.e	239891 ^a	116983 ^{a,b}	184752 ^a
genfibrozila	211450 ^c	5136772 ^a	2297540 ^b	3433256 ^b
furosamida	n.e	52836 ^a	n.e	n.e
glibenclamida	505746 ^b	3713359 ^a	2597195 ^a	2524136 ^a
nifedipino	2387795 ^c	10311557 ^a	7235925 ^b	7218917 ^b
nimesulida	2387795 ^c	10311557 ^a	7003950 ^b	7218917 ^b
propilparabeno	106853 ^b	148385 ^a	88995 ^b	87760 ^b
triclocarban	8231894 ^b	20168799 ^a	14435946 ^{a,b}	15863802 ^a

Volume do solvente dispersor				
analitos	250 µL	500 µL	1500 µL	2000 µL
Agrotóxicos				
2,4 – D	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.
atrazina	161284 ^c	4627503 ^a	3626086 ^b	3574708 ^b
azoxistrobina	2335015 ^c	4556278 ^a	3484452 ^b	3574708 ^b
ciproconazol	3147003 ^c	16880295 ^a	11111915 ^b	11304731 ^b
clomazona	3618833 ^c	21615826 ^a	13811629 ^b	13853424 ^b
diclorana	0 ^c	103024 ^a	56376 ^b	49020 ^b
difeconazol	7476966 ^c	27861976 ^a	18000473 ^b	20663452 ^b
diuron	214899 ^c	2404039 ^a	2010071 ^b	1835783 ^b
epoxiconazol	6313935 ^c	30782383 ^a	18913922 ^b	19609826 ^b
fenoxoprope-p-etílico	1947692 ^d	5412331 ^a	3511850 ^c	4331038 ^b
fipronil	13692881 ^b	30253670 ^a	20274399 ^b	22053902 ^{a, b}

Volume do solvente dispersor				
analitos	250 µL	500 µL	1500 µL	2000 µL
iproclona	850815 ^c	4265923 ^a	3245784 ^{a, b}	3092614 ^b
irgarol	562111 ^c	5608558 ^a	3567469 ^b	3454139 ^b
propanil	1371979 ^c	8792582 ^a	4671919 ^b	4984647 ^b
propiconazol	2944131 ^c	15839907 ^a	10935828 ^b	10604745 ^b
tebuconazole	10325085 ^c	27427970 ^a	16661255 ^b	16676986 ^b
trifloxistrobina	6804769 ^c	22030551 ^a	15675315 ^b	15285838 ^b

Médias seguidas por letras iguais, na mesma linha, não apresentam diferença estatística significativa ($p \geq 0,05$) pelo teste de Tukey com significância de 95%.

*n.e – não extraído

6.3.3. Efeito do pH

O pH da amostra desempenha um papel importante na extração dos agrotóxicos e PPCPs e mostrou ser um parâmetro com influência significativa nos valores de recuperação (Tabela 12). O pH da amostra determina a forma como os analitos estarão presente na amostra (como íons ou forma neutra), que, posteriormente, pode afetar a recuperação dos analitos (ZHANG *et al.*, 2010). Como a maioria dos agrotóxicos e PPCPs apresentam grupos funcionais ionizáveis, o pH da amostra aquosa influencia na recuperação dos analitos, porque espécies carregadas tendem a evitar o solvente orgânico (HENDRIKS *et al.*, 2007).

O efeito do pH para avaliar a recuperação dos analitos foi estudado nos valores de pH 2 pela adição de uma solução de ácido fosfórico; 6,3 (o pH da água da torneira), e 12 pela adição hidróxido de sódio.

Como pode ser observado na Figura 15, o composto 2,4-D recuperou apenas na amostra que o pH foi ajustado para 2, devido ao seu caráter ácido (pKa 2,8). Com a acidificação da amostra, o composto prevalece na forma molecular, favorecendo a partição para a fase orgânica. Este comportamento também foi relatado no estudo de (FARHADI *et al.*, 2009) e (SHAMSIPUR *et al.*, 2012) na extração do 2,4-D utilizando DLLME. Para a maioria dos agrotóxicos, o aumento do pH de 2,0 para 6,3 resultou na diminuição significativa de recuperação. Quando o pH da amostra foi aumentado de 6,3 para 12, houve uma diminuição na recuperação dos compostos. O analito bisfenol – A (pKa 9,59; 10,2) apresentou aumento na recuperação com o aumento do pH.

Entretanto, em pH 12, a recuperação diminui para a maioria dos compostos, comportamento observado também para compostos básicos que deveriam ter um aumento na recuperação nessa condição. De acordo com (ZHENG *et al.*, 2011), quando se utiliza 2-dodecanol em condições extremamente alcalinas, as microgotículas formadas na extração podem não aderir completamente na gota orgânica flutuante final, mesmo depois da centrifugação. Em virtude disso, podem ocorrer perdas na recuperação, o que pode ter ocorrido neste trabalho com a utilização do 1-dodecanol, visto que os solventes são semelhantes. As melhores recuperações foram obtidos com pH 2.

Cabe salientar, que a amostra em pH 2 foi que apresentou os melhores resultados. Recuperações acima de 50% foram obtidas para 18 compostos quando

utilizado pH da amostra em 2 com RSD menores que 11%, 15 compostos obtiveram recuperações maiores que 50% com RSD menores que 12 quando utilizado o pH da amostra em 6,3, amostra em pH 12 recuperações acima de 50% foram obtidas para 2 compostos.

Foi realizado um teste de Tukey para todos os resultados obtidos (Tabela 12), para verificar se havia diferença significativa no volume do solvente dispersor e foi encontrada diferença significativa ($p < 0,05$) para todos os analitos. Estes analitos apresentaram maiores valores de área com pH da amostra ajustado para 2. Baseado nestes resultados e com o objetivo de extrair agrotóxicos e PPCPs juntos em apenas uma extração, foi selecionado trabalhar em pH 2.

Figura 15 - Efeito do pH da amostra na DLLME-SFO na recuperação de agrotóxicos e PPCPs em água potável. Condições de extração 10 mL de amostra fortificada com $5 \mu\text{g L}^{-1}$; solvente extrator: 100 μL ; solvente dispersor: 500 μL ; centrifugação: 4000 rpm por 5 min. As barras de erros indicam valores de RSD

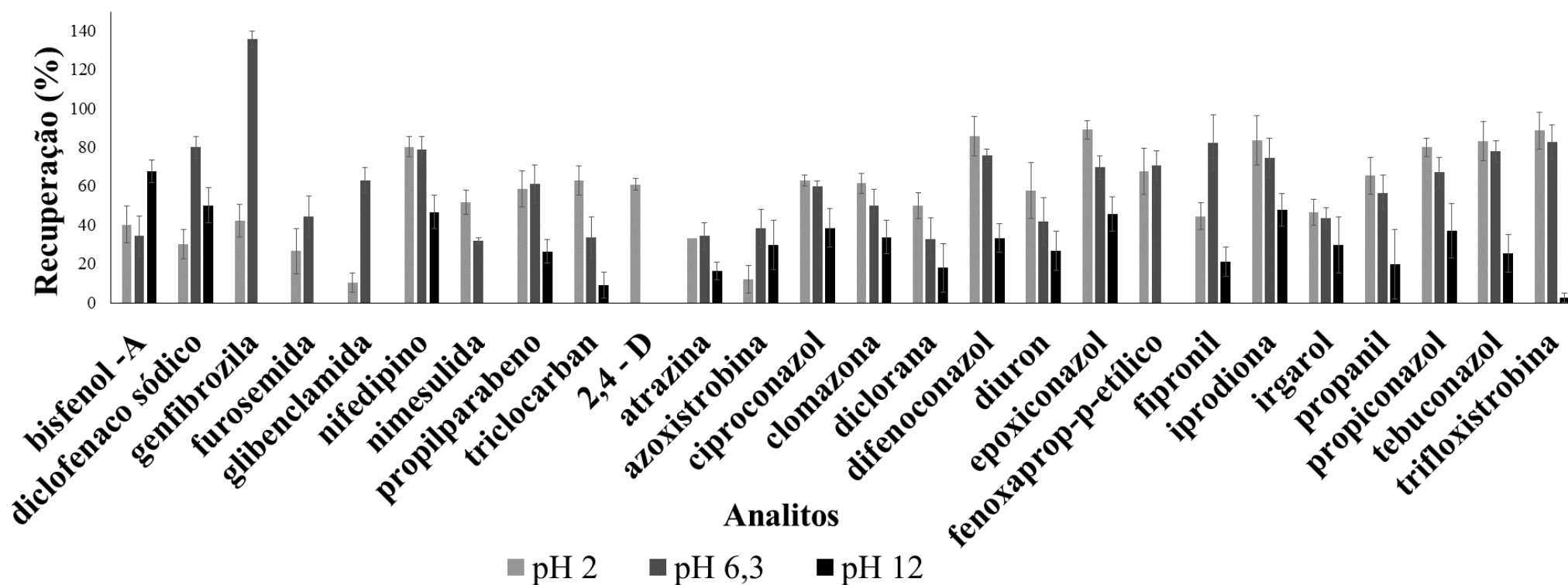


Tabela 12 - Resultados em área após extração por DLLME-SFO em diferentes valores de pH

analitos	pH		
	2	6,3	12
PPCPs			
Bisfenol – A	67932 ^a	49268 ^a	44126 ^a
Diclofenaco sódico	79963 ^c	239891 ^a	119945 ^b
Genfibrozila	86768 ^b	2476421 ^a	0 ^c
Furosamida	16511 ^b	52836 ^a	0 ^c
Glibenclamida	489636 ^b	2426856 ^a	0 ^c
Nifedipino	2226813 ^a	2496598 ^a	1342825 ^b
Nimesulida	10715378 ^a	7110985 ^b	61533 ^c
Propilparabeno	1943054 ^a	39544 ^b	0 ^b
Triclocarban	18598727 ^a	9780162 ^b	2747795 ^c
Agrotóxicos			
2,4 – D	808223 ^a	0 ^b	0 ^b
Atrazina	683302 ^c	3385348 ^a	1867461 ^b
Azoxistrobina	4565952 ^c	13116463 ^a	10666463 ^b
Ciproconazol	13360102 ^a	12650376 ^a	8178856 ^b

analitos	pH		
	2	6,3	12
Clomazona	21828642 ^a	18296809 ^b	12090032 ^c
Diclorana	83111 ^a	52674 ^b	36009 ^b
Difeconazol	29071941 ^a	25361240 ^a	11658259 ^b
Diuron	3009228 ^a	2934309 ^a	1683809 ^b
Epoxiconazol	33987978 ^a	26365851 ^b	16501496 ^c
Fenoxoprop-p-Etílico	4449311 ^b	5266605 ^a	0 ^c
Fipronil	17426716 ^a	8907818 ^b	1729136 ^c
Iprodiona	6113316 ^a	5473503 ^b	3451028 ^c
Irgarol	1069655 ^b	1367252 ^b	58449977 ^a
Propanil	9380631 ^a	7500854 ^b	2586201 ^c
Propiconazol	18246654 ^a	14907777 ^b	8996261 ^c
Tebuconazole	17182125 ^a	15791233 ^a	6219999 ^b
Trifloxistrobina	15600428 ^a	15066965 ^a	419790 ^b

Médias seguidas por letras iguais, na mesma linha, não apresentam diferença estatística significativa ($p \geq 0,05$) pelo teste de Tukey com significância de 95%.

*n.e – não extraído

6.3.4. Adição de sal

Geralmente na técnica de DLLME, a adição de sal é avaliada empregando-se NaCl em concentrações que variam de 0,5 a 30%. O uso de outros sais é pouco explorado, fosfato dissódico (Na_2HPO_4) e cloreto de sódio (NaCl) foram avaliados na extração de carotenóides em sucos de frutas utilizando DLLME-SFO, o NaCl foi o que apresentou melhores recuperações (SRICHAROEN *et al.*, 2016).

A adição de sal geralmente diminui a solubilidade dos analitos na amostra aquosa e aumenta a sua partição na fase orgânica (LIU *et al.*, 2009). Quando o sal é adicionado à solução, as moléculas de água formam uma esfera de hidratação ao redor da molécula iônica de sal. As esferas de hidratação reduzem a quantidade de água disponível para dissolver os analitos favorecendo a extração do analito para a fase orgânica. Esse efeito é principalmente observado para analitos com alta polaridade (BEHBAHANI *et al.*, 2014).

Neste trabalho, foram testados o sulfato de magnésio (MgSO_4), cloreto de sódio (NaCl) e o sulfato de amônio $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ na concentração de 1% (m/v). Após a adição do sal na amostra aquosa, o pH foi ajustado para 2. E os resultados são mostrados na Figura 16.

A adição dos diferentes sais não produziu nenhuma diferença significativa ($p > 0,05$) na recuperação para bisfenol-A, glibenclamida, nimesulida, propilparabeno, triclocarban, azoxistrobina, ciproconazol, clomazona e epoxiconazol (Tabela 13).

Para os outros compostos, a presença de sais resultou na diminuição significativa da recuperação, possivelmente porque sais dissolvidos na solução aquosa podem alterar as propriedades físicas da difusão de Nernst e diminuir a taxa de difusão dos analitos na fase orgânica (WANG *et al.*, 2012). Por isso, o sal não foi adicionado nos experimentos subsequentes.

Figura 16 - Efeito da força iônica na DLLME-SFO na recuperação de agrotóxicos e PPCPs em água potável. Condições de extração: 10 mL de amostra fortificada com $5 \mu\text{g L}^{-1}$ pH 2; solvente extrator: 100 μL ; solvente dispersor: 500 μL ; centrifugação: 4000 rpm por 5 min. As barras de erros indicam valores de RSD

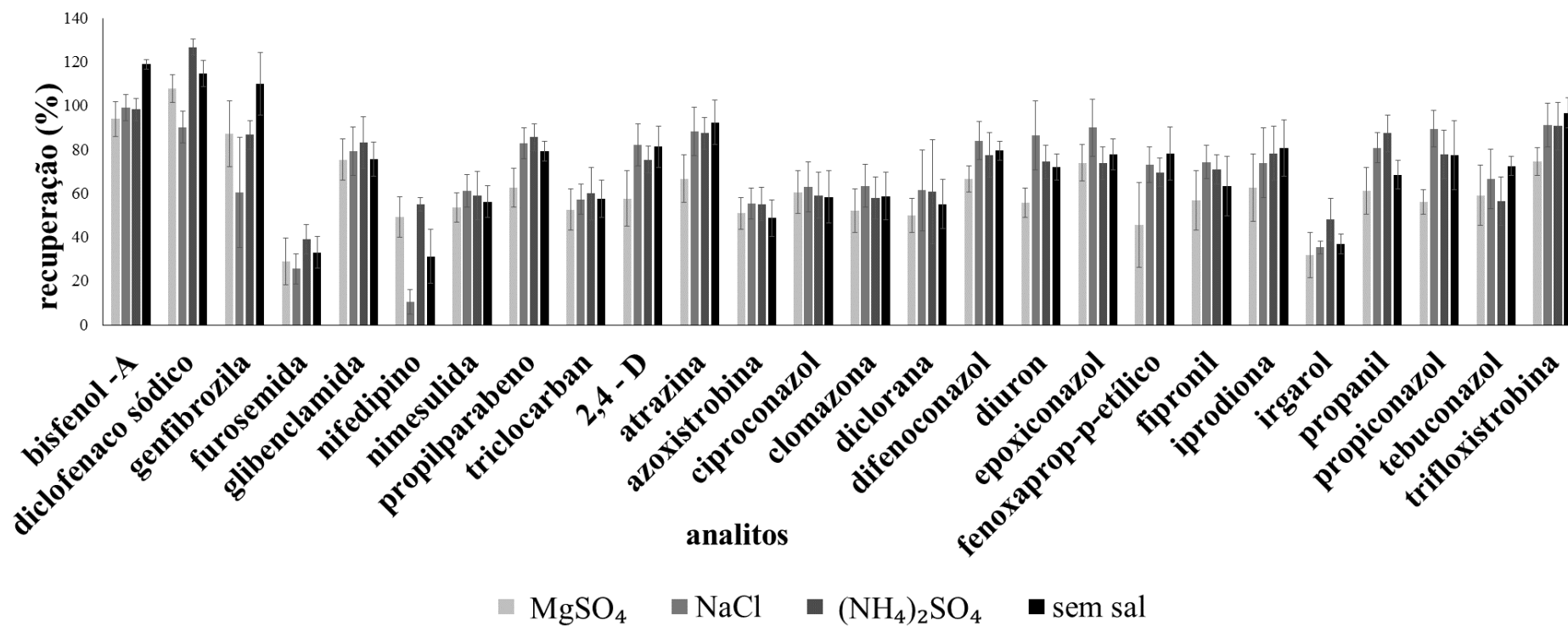


Tabela 13 - Área dos picos empregando diferente tipos de sais na DLLME-SFO

analitos	Tipo de sal			
	MgSO ₄	NaCl	(NH ₄) ₂ SO ₄	SEM SAL
PPCPs				
bisfenol – A	546127 ^a	573578 ^a	570462 ^a	590224 ^a
diclofenaco sódico	5372881 ^b	4472823 ^c	6252853 ^a	5633521 ^{a,b}
genfibrozila	2404517 ^c	3333313 ^{a,b}	3216007 ^{a,b}	4153042 ^a
furosemida	1442333 ^b	1273213 ^b	1685147 ^{a,b}	2020922 ^a
glibenclamida	5905108 ^a	6413779 ^a	6579197 ^a	5721406 ^a
nifedipino	1442333 ^b	1273213 ^b	1685147 ^{a,b}	2020922 ^a
nimesulida	11037453 ^a	12584717 ^a	12114661 ^a	11561583 ^a
propilparabeno	2449480 ^a	3181196 ^a	3015113 ^a	3128672 ^a
triclocarban	20479089 ^a	22675801 ^a	20431294 ^a	22433947 ^a
Agrotóxicos				
2,4-D	769275 ^b	1200976 ^a	1103969 ^a	1189540 ^a
atrazina	557187 ^c	726269 ^{a,b}	645898 ^{b,c}	763762 ^a
azoxistrobina	23160821 ^a	25197407 ^a	24105185 ^a	22143830 ^a
ciproconazol	19388671 ^a	20623037 ^a	19660369 ^a	21290133 ^a

analitos	Tipo de sal			
	MgSO ₄	NaCl	(NH ₄) ₂ SO ₄	SEM SAL
clomazona	25524693 ^a	30098308 ^a	31046760 ^a	30988952 ^a
diclorana	111996 ^b	126026 ^{a,b}	150335 ^a	117171 ^b
difeconazol	31038343 ^b	40308465 ^a	37113720 ^a	37055842 ^a
diuron	1036509 ^b	1588256 ^a	1383271 ^a	1653496 ^a
epoxiconazol	31340891 ^a	38193429 ^a	31378833 ^a	33042667 ^a
fenoxoprop-p-etílico	5053189 ^b	7655966 ^c	6466300 ^a	7942306 ^a
fipronil	27905009 ^b	36562164 ^a	34939193 ^a	32084210 ^{a,b}
iprodiona	4371538 ^b	4732960 ^b	4594460 ^b	6335221 ^a
irgarol	70542491 ^b	75725875 ^b	104319370 ^a	75912651 ^b
propanil	3278526 ^b	4432556 ^a	4382378 ^a	4048306 ^a
propiconazol	16569306 ^c	24571145 ^a	20177087 ^b	20642129 ^b
tebuconazol	24582296 ^a	27997371 ^a	24645296 ^a	26902489 ^a
trifloxistrobina	27206603 ^b	34201664 ^a	34211959 ^a	36309056 ^a

Médias seguidas por letras iguais, na mesma linha, não apresentam diferença estatística significativa ($p \geq 0,05$) pelo teste de Tukey com significância de 95%.

*n.e – não extraído

6.4. Procedimento experimental desenvolvido para a extração dos agrotóxicos e PPCPS por DLLME-SFO

O procedimento desenvolvido baseou-se na injeção da mistura de 100 μL de 1-dodecanol como solvente extrator e 500 μL de metanol como solvente dispersor em 10 mL de amostra aquosa com pH 2. No momento da mistura, uma solução turva é formada e as microgotas do solvente extrator são dispersas na fase aquosa. Posteriormente a solução é centrifugada por 5 minutos a 4000 rpm e em seguida é colocada em banho de gelo por 5 minutos. Após, a gota orgânica flutuante congelada é removida com o auxílio de uma espátula. A gota é colocada em tubo eppendorf de 2 mL e o volume ajustado para 500 μL com metanol. Logo após, o extrato é transferido para inserts de vidro e injetado no sistema LC-MS/MS para a sua determinação.

6.4.1. Validação do método empregando DLLME-SFO e LC-MS/MS

6.4.1.1. Limite de detecção e quantificação

A partir das injeções de padrões preparados no extrato da matriz, foram avaliadas as razões sinal/ruído, sendo considerado o valor de s/n 10 como LOQ e s/n 3 de LOD. Na Tabela 14 são apresentados os limites de detecção (LOD_i) e de quantificação (LOQ_i) do instrumento, em $\mu\text{g L}^{-1}$, bem como os limites de detecção (LOD_m) e de quantificação (LOQ_m) do método, em $\mu\text{g L}^{-1}$, para os compostos em estudo.

Tabela 14 - Limite de detecção instrumental (LOD_i), Limite de Quantificação instrumental (LOQ_i), limite de detecção do método (LOD_m) e limite de quantificação do método (LOQ_m)

Analitos	LOD_i ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LOQ_i ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LOD_m ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LOQ_m ($\mu\text{g L}^{-1}$)
PPCPS				
bisfenol- A	16	50	0,8	2,5
diclofenaco sódico	3	10	0,1	0,5
glibenclamida	1,6	5	0,08	0,25

Analitos	LOD_i (µg L⁻¹)	LOQ_i (µg L⁻¹)	LOD_m (µg L⁻¹)	LOQ_m (µg L⁻¹)
genfibrozila	16	50	0,8	2,5
furosemida	1,3	4	0,8	2,5
nifedipino	16	50	0,8	2,5
nimesulida	16	50	0,8	2,5
propilparabeno	3	10	0,1	0,5
triclocarban	16	50	0,8	2,5
Agrotóxicos				
2,4-D	16	50	0,8	2,5
atrazina	16	50	0,8	2,5
azoxistrobina	16	50	0,8	2,5
ciproconazol	3	10	0,1	0,5
clomazona	3	10	0,1	0,5
diclorana	16	50	0,8	2,5
difenoconazol	3	10	0,1	0,5
diuron	3	10	0,1	0,5
epoxiconazol	3	10	0,1	0,5
Fenoxaprop-p-etílico	3	10	0,1	0,5
fipronil	3	10	0,1	0,5
iprodiona	16	50	0,8	2,5
irgarol	16	50	0,8	2,5
propanil	3	10	0,1	0,5
propiconazol	3	10	0,1	0,5
tebuconazol	3	10	0,1	0,5
trifloxistrobina	16	50	0,8	2,5
atrazina – d5	16	50	0,8	2,5

Os valores de LOQ_i para todos os analitos variaram entre 4 e 50 µg L⁻¹ (Tabela 14). Uma vez definidos os LOQ_i, amostras de água foram fortificadas em concentração equivalente para verificar a eficiência de extração nestes níveis. Uma vez alcançados valores de recuperações (%) entre 70 e 120% com RSDs inferiores a 20%, os valores de LOQ_m ficaram entre 0,25 e 2,5 µg L⁻¹.

A legislação que regulamenta a potabilidade de água no Brasil é a Portaria MS nº 2914, de 12 de dezembro de 2011. Nesta portaria apenas os compostos 2,4-D, atrazina, diuron e tebuconazol dentre os 17 agrotóxicos selecionados para este estudo estão registrados. Os limites máximos de

resíduos (LMR) para esses agrotóxicos variam de 2 a 180 $\mu\text{g L}^{-1}$ (BRASIL, 2011). Os valores de LOQs encontrados para os agrotóxicos nesse estudo são inferiores aos LMR permitidos pela legislação brasileira.

No Estado do Rio Grande do Sul, a Portaria Estadual 320/2014 contempla o monitoramento de resíduos de 46 agrotóxicos, além das substâncias que são monitoradas na Portaria MS nº 2914. Nesta portaria os agrotóxicos difenoconazol, epoxiconazol, fenoxaprop-p-etílico e fipronil selecionados neste estudo estão registrados. Os LMR para esses agrotóxicos variam de 1,2 a 60 $\mu\text{g L}^{-1}$ (RS, 2014). Os valores de LOQs encontrados para os agrotóxicos nesse estudo são inferiores aos LMR permitidos pela portaria estadual.

Em relação à legislação europeia os LMR para a soma total de agrotóxicos em amostras de água é de 0,5 $\mu\text{g L}^{-1}$ (EU, 1998), estando os LOQs desse trabalho dentro desse valor, exceto para os compostos 2,4-D, atrazina, azoxistrobina, diclorana, iprodiona, irgarol e trifloxistrobina os quais os LOQs foram de 2,5 $\mu\text{g L}^{-1}$.

Na Tabela 15, é apresentada uma comparação entre os LOQm dos agrotóxicos com os LMR estabelecidos pelas Portaria MS nº 2914, Portaria RS/SES Nº 320 e legislação da União Europeia.

Tabela 15 - Comparação entre os LOQm dos agrotóxicos na DLLME-SFO com os limites regulamentados pela Portaria RS/SES nº 320, Portaria MS nº2914 e a legislação da União Europeia

Analitos	LMR ($\mu\text{g L}^{-1}$)			
	LOQm ($\mu\text{g L}^{-1}$) DLLME-SFO	Portaria RS/SES nº 320 de 24/04/2014	Portaria MS nº 2914/ Brasil	Legislação União Europeia Soma total de agrotóxicos
2,4 - D	2,5	n.c	30	0,5
atrazina	2,5	n.c	2	
diuron	0,5	n.c	90	
tebuconazol	0,5	n.c	180	

Analitos	LMR ($\mu\text{g L}^{-1}$)			
	LOQm ($\mu\text{g L}^{-1}$) DLLME-SFO	Portaria RS/SES nº 320 de 24/04/2014	Portaria MS nº 2914/ Brasil	Legislação União Europeia Soma total de agrotóxicos
difenoconazol	0,5	60	n.c	
epoxiconazol	0,5	18	n.c	
fenoxaprop-etílico	0,5	15	n.c	
fipronil	0,5	1,2	n.c	

*n.c – não contempla

Por outro lado, ainda não existem LMRs nas legislações nacionais e internacionais para os PPCPs,. Além disso, os valores apresentados na Tabela 14 foram semelhantes ou menores do que os valores obtidos para outras aplicações de DLLME-SFO (HOU *et al.*, 2013; HASHEMI *et al.*, 2015; MARTÍN *et al.*, 2015). Portanto, a técnica DLLME-SFO desenvolvida neste estudo é adequada para o monitoramento de resíduos de agrotóxicos e PPCPs em amostras de águas, pois os níveis de quantificação obtidos estão de acordo com os limites estabelecidos pela legislação brasileira e a legislação europeia.

6.4.1.2. Curva analítica e linearidade

A faixa linear de todas as curvas analíticas (curva no solvente e curva na matriz) foram construídas a partir do LOQ instrumental de cada composto e como último ponto a concentração de $1000 \mu\text{g L}^{-1}$, sempre garantindo que todas as curvas tivessem no mínimo 5 níveis de concentração. Entretanto, as curvas analíticas responderam em diferentes faixas de concentração, levando em conta a característica de cada analito.

A curva trabalho, devido ao fato de passar por todo processo de extração e levando em consideração o fator de concentração de 20 vezes, teve

como primeiro ponto a concentração equivalente ao LOQ do método de cada analito até $50 \mu\text{g L}^{-1}$.

Os resultados para as curvas analíticas preparadas no solvente e no extrato podem ser observados na Tabela 16. Os coeficientes de correlação (r) variaram entre 0,9913 e 0,9998, estando de acordo com os valores recomendados segundo as orientações da ANVISA ($r \geq 0,99$) e INMETRO ($\geq 0,90$) para todos os analitos na faixa entre o LOQ_i e $1000 \mu\text{g L}^{-1}$.

Tabela 16 - Resultados obtidos para as curvas analíticas

Analitos	Faixa linear ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Curva analítica no solvente	r	Curva analítica no extrato da matriz	r
PPCPs					
bisfenol – A	50 - 1000	$y = 1040,2x - 11,545$	0,9987	$y = 942,06x - 6,3327$	0,9989
diclofenaco sódico	10 - 1000	$y = 3E+07x - 832860$	0,9987	$y = 3E+07x - 763623$	0,9956
genfibrozila	5 - 1000	$y = 2E+07x - 123600$	0,9968	$y = 1E+07x - 128692$	0,9913
furosemida	50 - 1000	$y = 4E+07x - 781481$	0,9992	$y = 3E+07x - 840562$	0,9981
glibenclamida	4 - 1000	$y = 6E+07x - 751650$	0,9984	$y = 5E+07x - 720680$	0,9941
nifedipino	50 - 1000	$y = 4E+07x + 6E+06$	0,9983	$y = 4E+07x + 3E+06$	0,9998
nimesulida	50 - 1000	$y = 1E+08x + 1E+06$	0,9990	$y = 1E+08x + 516794$	0,9915
propilparabeno	10 - 1000	$y = 3E+07x - 390224$	0,9991	$y = 3E+07x - 390224$	0,9953
triclocarban	50 - 1000	$y = 3E+08x - 1E+06$	0,9946	$y = 3E+08x - 5E+06$	0,9994
agrotóxicos					
2,4-D	50 - 1000	$y = 8E+06x - 84920$	0,9985	$y = 7E+06x - 127162$	0,9976
atrazina	50 - 1000	$y = 9E+07x - 2E+06$	0,9994	$y = 9E+07x - 2E+06$	0,9961
azoxistrobina	50 - 1000	$y = 5E+08x + 636423$	0,9993	$y = 6E+08x + 889913$	0,9916
ciproconazol	10 - 1000	$y = 3E+08x - 2E+06$	0,9994	$y = 2E+08x - 2E+06$	0,9971
clomazona	10 - 1000	$y = 4E+08x - 5E+06$	0,9994	$y = 3E+08x - 4E+06$	0,9980
diclorana	50 - 1000	$y = 774294x + 11837$	0,9955	$y = 690427x - 17789$	0,9976
difeconazol	10 - 1000	$y = 3E+08x - 3E+06$	0,9983	$y = 3E+08x - 4E+06$	0,9977
diuron	10 - 1000	$y = 5E+07x - 634794$	0,9984	$y = 4E+07x - 357514$	0,9985
epoxiconazol	10 - 1000	$y = 3E+08x - 3E+06$	0,9993	$y = 3E+08x - 4E+06$	0,9971
fenoxaprop-p-etílico	10 - 1000	$y = 5E+07x - 431418$	0,9997	$y = 5E+07x - 1E+06$	0,9985
fipronil	10 - 1000	$y = 5E+08x - 1E+07$	0,9992	$y = 4E+08x - 1E+07$	0,9969
iprodiona	50 - 1000	$y = 4E+07x - 1E+06$	0,9988	$y = 4E+07x - 1E+06$	0,9991
irgarol	50 - 1000	$y = 2E+09x - 3E+07$	0,9992	$y = 2E+09x - 5E+07$	0,9953

Analitos	Faixa linear ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Curva analítica no solvente	r	Curva analítica no extrato da matriz	r
propanil	10 - 1000	$y = 7\text{E}+07x - 658815$	0,9981	$y = 6\text{E}+07x + 138326$	0,9995
propiconazol	10 - 1000	$y = 2\text{E}+08x - 2\text{E}+06$	0,9995	$y = 1\text{E}+08x - 2\text{E}+06$	0,9970
tebuconazol	10 - 1000	$y = 2\text{E}+08x - 1\text{E}+06$	0,9992	$y = 1\text{E}+08x - 661744$	0,9977
trifloxistrobina	50 - 1000	$y = 8\text{E}+07x - 1\text{E}+06$	0,9981	$y = 8\text{E}+07x - 2\text{E}+06$	0,9973

As amostras fortificadas (curva trabalho) apresentaram valores de r variando entre 0,9942 e 0,9997 na faixa entre o LOQm e $50 \mu\text{g L}^{-1}$. A curva trabalho foi construída com a finalidade de verificar a linearidade de todo o método analítico, abrangendo desde a etapa de preparo de amostra até as análises no LC-MS/MS, e verificou-se boa linearidade para todos os compostos estudados, uma vez que os valores de coeficiente de correlação próximo de 1 foram obtidos, o que, segundo o INMETRO, ANVISA e SANTE são considerados adequados. Os resultados para as curvas trabalho podem ser observadas na Tabela 17.

Tabela 17 - Resultados obtidos para as curvas trabalho

Analitos	Faixa linear ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Curva trabalho	R
PPCPs			
bisfenol – A	2,5 - 50	$y = 1059,8x + 1,9453$	0,9997
Diclofenaco sódico	0,5 - 50	$y = 17158x + 343,79$	0,9963
glibenclamida	0,25 - 50	$y = 25958x + 103,63$	0,9987
genfibrozila	2,5 - 50	$y = 16388x + 153,14$	0,9988
furosemida	2,5 - 50	$y = 53994x + 40,197$	0,9996
nifedipino	2,5 - 50	$y = 87540x + 5608,5$	0,9964
nimesulida	2,5 - 50	$y = 17165x - 33,278$	0,9982
propilparabeno	0,5 - 50	$y = 116477x + 1600,8$	0,9942
triclocarban	2,5 - 50	$y = 1059,8x + 1,9453$	0,9997
Agrotóxicos			

Analitos	Faixa linear ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Curva trabalho	R
2,4-D	2,5 - 50	$y = 6741,1x + 115,33$	0,9971
atrazina	2,5 - 50	$y = 48535x - 493,61$	0,9970
azoxistrobina	2,5 - 50	$y = 133116x + 751,69$	0,9995
ciproconazol	0,5 - 50	$y = 174554x - 710,21$	0,9995
clomazona	0,5 - 50	$y = 243943x + 3238,2$	0,9988
Diclorana	2,5 - 50	$y = 675,16x + 12,921$	0,9996
difeconazol	0,5 - 50	$y = 168181x - 393,64$	0,9955
Diuron	0,5 - 50	$y = 4E+07x - 357514$	0,9994
Epoxiconazol	0,5 - 50	$y = 191535x - 1205,4$	0,9972
Fenoxaprop-p-etílico	0,5 - 50	$y = 20245x + 70,19$	0,9976
fipronil	0,5 - 50	$y = 284159x - 2507,9$	0,9988
Iprodiona	2,5 - 50	$y = 22215x - 319,76$	0,9993
Irgarol	2,5 - 50	$y = 268599x + 3747,1$	0,9984
Propanil	0,5 - 50	$y = 45531x - 532,98$	0,9988
Propiconazol	0,5 - 50	$y = 95501x + 16,74$	0,9985
Tebuconazol	0,5 - 50	$y = 105381x + 244,87$	0,9985
Trifloxistrobina	2,5 - 50	$y = 92651x + 2447,5$	0,9983

6.4.1.3. Exatidão e precisão

Para a avaliar a eficiência da extração pela DLLME-SFO, foram realizados ensaios de recuperação em três níveis, nas concentrações correspondentes a 1 LOQ, 5 LOQ e 10 LOQ. A repetibilidade foi avaliada em três níveis de fortificação para cada analito ao nível do LOQ, 5 e 10 vezes maior que o LOQ e a precisão intermediária foi avaliada ao nível do LOQ e 10 vezes maior que o LOQ.

Recuperações na faixa de 70 a 120% para a repetibilidade foram obtidos para a maioria dos analitos (Tabela 18). Apenas os compostos bisfenol – A

(nível 10LOQ) e propanil (nível do LOQ) apresentaram valores fora da faixa entre 70 e 120%. Para a precisão intermediária, a maioria dos compostos apresentou valores dentro da faixa aceitável, ficando fora da faixa entre 70 e 120% apenas genfibrozila, nimesulida, azoxistrobina (nível do LOQ) e diuron (nível 10LOQ)

O padrão de recuperação (atrazina – d5) também foi avaliado, na concentração correspondente ao LOQ. Recuperações entre 70 e 120% com RSD (%) inferiores a 20% foram obtidos.

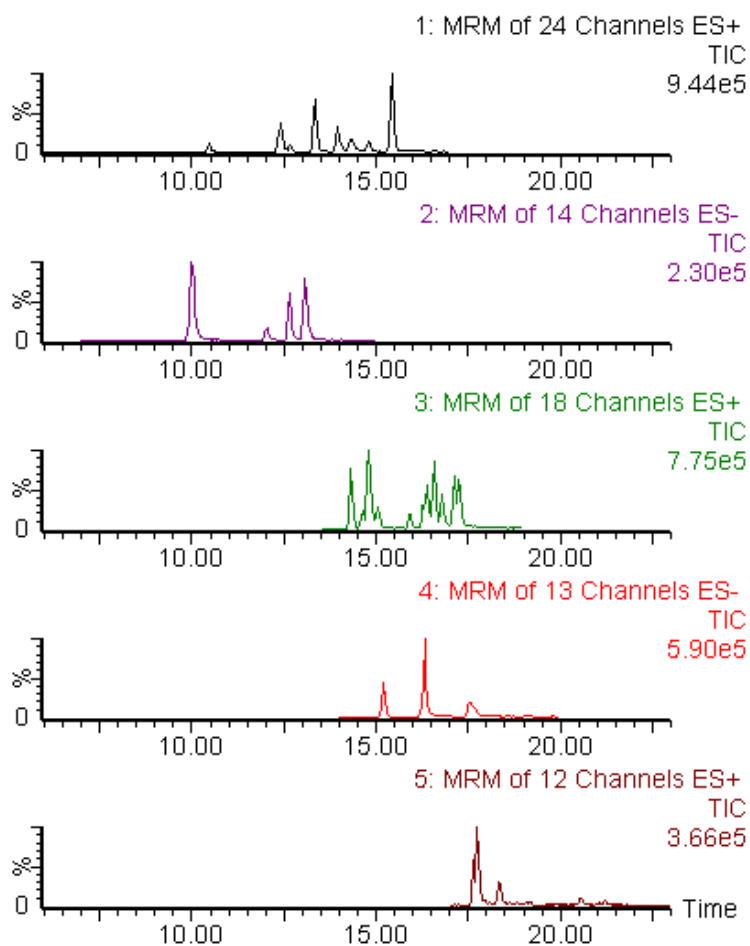
Tabela 18 - Recuperações e desvio padrão relativo (RSD) para as amostras de água fortificadas em diferentes níveis

analitos	REPETIBILIDADE						PRECISÃO INTERMEDIÁRIA			
	LOQ		5LOQ		10LOQ		LOQ		10LOQ	
	R (%)	RSD (%)	R (%)	RSD (%)	R (%)	RSD (%)	R (%)	RSD (%)	R (%)	RSD (%)
<i>PPCPs</i>										
bisfenol- A	120	6	119	3	122	1	108	14	120	26
diclofenaco sódico	80	5	110	4	117	0,5	96	9	117	5
glibenclamida	110	3	112	11	120	7	127	6	124	10
genfibrozila	120	8	120	9	120	6	160	9	120	10
furosemida	120	9	108	7	80	9	88	8	98	12
nifedipino	120	9	72	3	100	1	87	7	78	4
nimesulida	100	3	112	5	116	4	63	4	104	9
propilparabeno	100	9	110	11	100	5	96	15	71	14
triclocarban	100	3	112	10	86	4	106	12	90	9
<i>Agrotóxicos</i>										

analitos	REPETIBILIDADE						PRECISÃO INTERMEDIÁRIA			
	LOQ		5LOQ		10LOQ		LOQ		10LOQ	
	R (%)	RSD (%)	R (%)	RSD (%)	R (%)	RSD (%)	R (%)	RSD (%)	R (%)	RSD (%)
2,4-D	120	8	120	8	120	9	100	9	97	5
atrazina	100	10	80	6	9	10	103	6	87	5
azoxistrobina	100	2	120	3	110	2	140	5	120	2
ciproconazol	100	7	120	3	100	12	75	10	60	6
clomazona	90	3	100	5	90	9	103	11	70	7
diclorana	100	14	120	7	102	10	117	6	101	10
difeconazol	100	8	110	9	110	11	75	9	80	10
diuron	100	12	100	7	105	8	119	4	64	8
epoxiconazol	100	4	110		100	13	119	15	83	2
fenoxaprop-p-etílico	100	14	80	5	100	11	111	13	115	14
fipronil	100	11	100	13	110	7	120	5	75	1
iprodiona	110	5	120	6	100	13	100	2	120	6

Cromatogramas no modo TIC do branco e da amostra fortificada em uma concentração de $500 \mu\text{g L}^{-1}$ podem ser observados na Figura 17.

Figura 17 - Cromatograma no modo TIC para as cinco funções monitoradas da matriz (água potável) fortificada na concentração de $5 \mu\text{g L}^{-1}$



A precisão do método foi avaliada em termos de repetibilidade e precisão intermediária. O método demonstrou boa precisão uma vez que os valores de RSD ficaram entre 1 e 14% para a repetibilidade e entre 1 e 26% para a precisão intermediária.

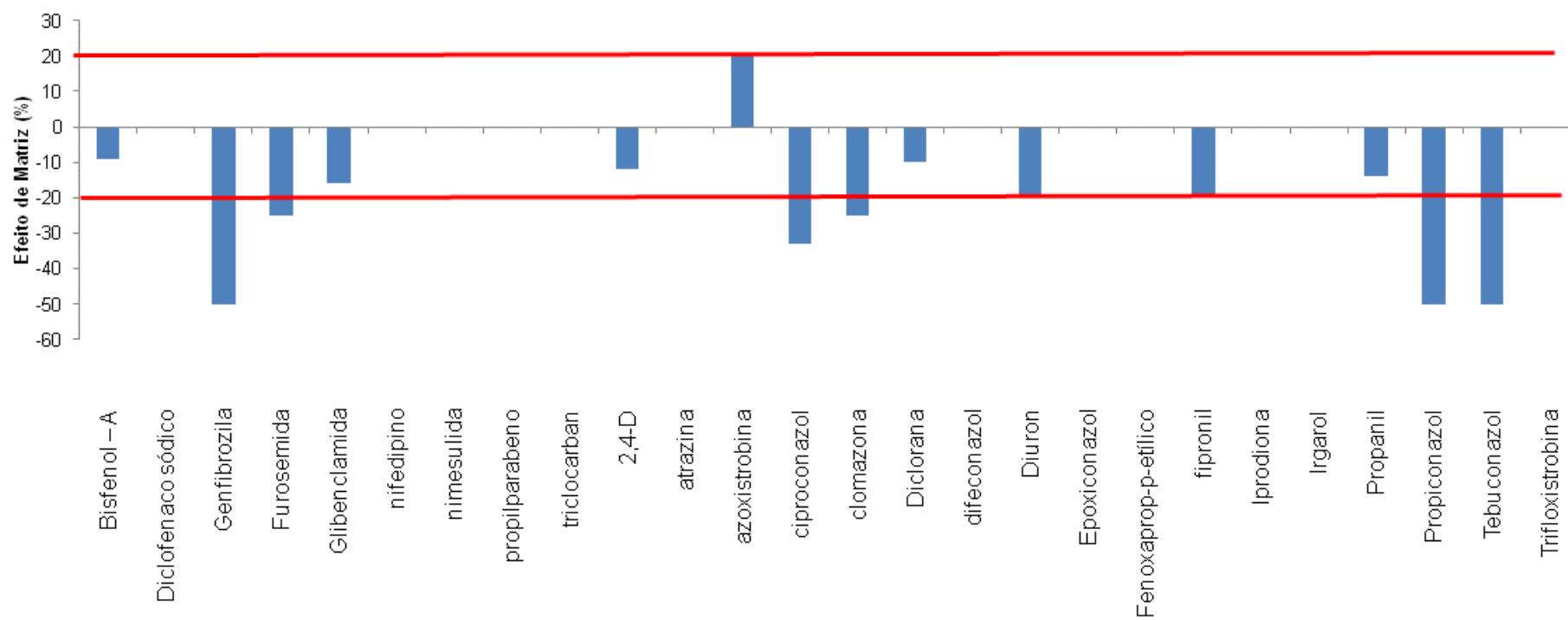
Estes parâmetros seguiram as recomendações da validação de métodos cromatográficos, no qual as recuperações devem ser entre 70 e 120% e, para a faixa de trabalho avaliada, a precisão deve apresentar RSD $\leq 20\%$ (ANVISA, 2003; INMETRO, 2011). Os resultados obtidos foram considerados satisfatórios. Apenas 5 analitos em alguns níveis de fortificação realizados apresentaram recuperações fora dessa faixa. Com relação a precisão, valores acima de 20% foi encontrado apenas para um analito em um nível de fortificação.

Pode-se verificar que os resultados obtidos para a repetibilidade e a precisão intermediária são adequados para as determinações analíticas em estudo, o método está de acordo com os parâmetros cromatográficos sugeridos pelas agências reguladoras.

6.4.1.4. Efeito matriz

O efeito matriz foi avaliado pela comparação da inclinação das curvas analíticas no extrato da matriz e no solvente. Os compostos genfibrozila, furosemida, ciproconazol, clomazona, propiconazol e tebuconazol foram influenciados negativamente pela matriz (supressão de sinal durante a ionização), entretanto os demais analitos não sofreram efeito matriz (Figura 18). Em outros trabalhos que avaliaram o efeito de matriz em DLLME (SALGUEIRO-GONZÁLEZ *et al.*, 2012; CALDAS *et al.*, 2016) também observou-se o efeito de supressão para alguns analitos

Figura 18 - Efeito matriz (água potável) para os analitos em estudo, calculado pela inclinação das curvas analíticas preparadas no solvente e no extrato da matriz



6.4.1.5. Aplicabilidade

Para avaliar a aplicabilidade do método, amostras de água de superfície de três locais da cidade de Rio Grande, RS, Brasil foram analisadas para verificar a ocorrência dos 26 PPCPs e agrotóxicos. A quantificação foi realizada empregando a adição de padrão, com mínimo 5 níveis de concentração, para compensar qualquer efeito de matriz. Atrazina-d5 foi adicionada nas amostras como padrão de recuperação para avaliar a eficiência de extração durante o preparo das amostras. Na Tabela 19, são apresentados os dados de pH e turbidez de cada amostra coletada.

Tabela 19 - Dados de pH e turbidez para as amostras coletadas para verificar a aplicabilidade do método

Local da coleta	Mês da coleta	pH	Turbidez (NTU)
Poço artesiano (Quitéria)	Setembro 2014	5,1	0,3
Arroio Vieira	Agosto 2014	6,5	11,5
São Gonçalo	Outubro 2014	6,3	34,3

Uma amostra de cada ponto foi coletada conforme os meses especificados na Tabela 19. Estas fontes de água estão localizadas em zonas urbana e rural da cidade do Rio Grande.

O ponto de coleta (Poço artesanal) é situado na Quitéria um subdistrito da Cidade do Rio Grande, onde se pratica atividade agrícola. Ciproconazol e clomazona foram detectados em concentrações menores que o LOQ. Já o composto epoxiconazol foi detectado na concentração de 0,5 $\mu\text{g L}^{-1}$. Também foi detectado em concentrações < LOQ o composto antibacteriano triclocarban

(que pode ser encontrado em sabonetes, desodorantes, cremes faciais e cremes dentais) evidenciando também a presença de resíduos de efluentes domésticos nessa região. Os resultados demonstram influência da agricultura nesta região, e também influência causada pela atividade antrópica, uma vez que foram detectados agrotóxicos e um produto de cuidado pessoal. Amostras coletadas no ano de 2009, na mesma região, indicaram a presença de carbofurano, clomazona e tebuconazol (CALDAS, 2009).

O ponto de coleta Arroio Viera, cruza a zona urbana do município do Rio Grande, esta localizado entre os Bairros Parque São Pedro, Parque Marinha e Jardim do Sol. Vale salientar que essa arroio atravessa o Bairro da Vila da Quinta, no qual também existe atividade agrícola. Neste arroio são descartados efluentes domésticos e de escoamento pluvial.

Nesse ponto de coleta, difenoconazol, propiconazol e propilparabeno foram detectados na concentração de $0,5 \mu\text{g L}^{-1}$ demonstrando a influência de efluentes domésticos na água e atividade agrícola. Propilparabeno é um conservante antimicrobiano que é amplamente utilizado em cosméticos, produtos de higiene pessoal, produtos farmacêuticos e alimentícios e é frequentemente detectado em águas de superfície em concentrações elevadas (CELANO *et al.*, 2014). Este composto tem sido detectado em amostras de água, inclusive no Brasil, em diferentes trabalhos e em concentrações que variam de ng L^{-1} a $\mu\text{g L}^{-1}$ (CALDAS *et al.*, 2013; CELANO *et al.*, 2014).

O ponto de coleta (Canal São Gonçalo) está próximo de uma região de intensa atividade agrícola, e esta água é captada para abastecimento público após tratamento. Neste ponto foram detectados em concentrações abaixo do limite de quantificação nimesulida, propilparabeno, azoxistrobina, ciproconazol, clomazona, difenoconazol, epoxiconazol, irgarol, propiconazol, tebuconazol e trifloxistrobina. Os agrotóxicos são indicados para a cultura do arroz, atividade agrícola predominante na região. Estes compostos têm sido detectados nessa região com frequência (DEMOLINER *et al.*, 2010; CALDAS *et al.*, 2013; CALDAS *et al.*, 2016). Em outro estudo, também realizado neste mesmo local, foram detectados alguns PPCPs dentre eles haloperidol, metilparabeno e nimesulida (SILVEIRA *et al.*, 2013).

O padrão de recuperação (atrazina-d5) foi adicionado em todos os processos de extrações das amostras de água e obteve recuperações entre 70 e 120% com RSD (%) inferiores a 20. Esse resultado demonstra que o método proposto é adequado para aplicação em amostras de água, uma vez que valores de exatidão e precisão do padrão de recuperação nas diferentes amostras de água está dentro da faixa aceitável. Com relação ao EM, esse não foi estudado nas diferentes amostras de água, mas cabe salientar que cada analito apresenta um comportamento diferente nas diferentes amostras de água, entretanto, para minimizar qualquer efeito matriz que possa existir a quantificação foi realizada empregando-se o método de adição padrão, para correção do efeito matriz.

6.5. Comparação da DLLME-SFO proposta com outros métodos empregados para extração de agrotóxicos e PPCPs de amostras de água com determinação por LC-MS/MS

O método proposto para determinação de agrotóxicos e PPCPs em amostras de água é comparado com outros métodos publicados na literatura para determinação desses compostos (Tabela 20).

As vantagens do método proposto em relação aos outros são; rapidez, exatidão, precisão e efeito matriz semelhante ao que vem sendo encontrado quando se utiliza outras técnicas. Além disso, algumas destas outras técnicas têm no final da extração uma etapa de evaporação (não é apresentado na tabela) introduzindo mais uma etapa no processo de extração podendo acarretar erros e a contaminação do extrato final, enquanto a técnica proposta tem no final de sua extração apenas a solubilização da gota de dodecanol em 500 μ L de metanol.

O principal destaque deste método em relação aos outros métodos referidos na literatura é que esta técnica nunca foi aplicada para a análise simultânea de agrotóxicos e PPCPs em amostras de água. Porém, a DLLME-SFO se mostrou uma técnica simples, rápida e ambientalmente correta. A

DLLME-SFO foi eficaz para a pré-concentração de agrotóxicos e PPCPs em amostras de água.

Tabela 20 - Comparação da DLLME-SFO proposta com outros métodos empregados para extração de agrotóxicos e PPCPs de amostras de água com determinação por LC-MS/MS

Técnica de extração	Analitos	Volume de amostra	Solvente extrator (volume)	Tempo de extração	Exatidão (%)	Precisão (%)	Faixa de LOQ ($\mu\text{g L}^{-1}$)	EM (%)	Referências
<i>HF-LPME</i>	4 Fármacos	5 mL água da torneira e refrigerantes	1-octanol 15 μL	20 min – 300 rpm	93 - 101	<17	2 - 5	≤ 10	(ZHANG, H. <i>et al.</i> , 2013)
<i>SPE</i>	51 PPCPs e agrotóxicos	250 mL água de superfície e água tratada	metanol 2 mL	30 – 50 min	70 - 120	2 – 20	0,0008 – 0,08		(Caldas et al., 2013)
<i>SPE-DLLME</i>	10 fármacos	500 mL água potável 250 mL água de superfície	metanol 5 mL na SPE 800 μL diclorometano na DLLME (evaporação)	94 min	64 - 99	<8,4	0,0003 – 0,006	- 48 a 110	(Liang et al., 2016)
<i>DLLME-SFO</i>	27 agrotóxicos e PPCPs	10 mL pH 2	1-dodecanol 100 μL	12 min	70 – 120*	$\leq 20^*$	0,25 – 2,5	-50 a 20	(Marube et al., 2015) Método proposto

* faixa de recuperação para 80% dos analitos

6.6. IL - DLLME

6.6.1. Escolha dos solventes extratores e dispersores

Para obter as melhores condições de extração na IL-DLLME, vários parâmetros foram avaliados, incluindo o tipo do líquido iônico utilizado como solvente extrator, tipo de solvente dispersor, volume do solvente extrator e dispersor, pH da amostra e efeito do sal.

A seleção do líquido iônico extrator é determinada por vários requisitos: deve ser imiscível na amostra aquosa, ter elevada capacidade de extrair compostos orgânicos, ter maior densidade que a água e ser compatível com o método de detecção que neste caso foi cromatografia líquida. Em virtude disso, os líquidos iônicos imidazólio contendo $[PF_6]$ com uma cadeia alquil hidrofóbica lateral ($[C_nMIM][PF_6]$, $n = 4, 6$ e 8) são os predominantes entre solventes extratores em microextrações líquido-líquido (ZHANG, J. *et al.*, 2012).

Para este experimento, foram avaliados $[C_4MIM][PF_6]$ e $[C_6MIM][PF_6]$ como solventes extratores enquanto metanol, acetonitrila e acetona foram avaliados por serem miscíveis na amostra aquosa e no solvente extrator. Foram testadas todas as combinações dos solventes extratores e dispersores para avaliar a eficiência da extração. Entretanto nas combinações do $[C_4MIM][PF_6]$ com os solventes dispersores ocorreu pouca formação da solução turva acarretando pouca ou nenhuma formação da fase orgânica sedimentada após a centrifugação, dada a sua elevada solubilidade em água. Esse mesmo comportamento foi observado no trabalho de Zhang *et al* (2012) na determinação de agrotóxicos em amostras de água utilizando líquidos iônicos como solventes extratores (ZHANG, J. *et al.*, 2012) e no trabalho de Suárez *et al* (2016) na determinação de filtros UV por IL-DLLME (SUÁREZ *et al.*, 2016).

Como podemos observar na Figura 19, quando se utiliza o IL $[C_6MIM][PF_6]$ combinado com acetona e acetonitrila como solventes dispersores, as recuperações diminuem para a maioria dos analitos. Com acetonitrila como solvente dispersor mesmo após centrifugação, a solução permaneceu turva e pouco volume de fase sedimentada foi observada na parte inferior do tubo o que acarretou em menores recuperações. Isso se deve ao fato da acetonitrila deixar o $[C_6MIM][PF_6]$ muito miscível em água. Portanto, acetonitrila não se mostrou o solvente adequado para extração dos analitos. Na determinação de agrotóxicos em amostras de águas usando IL-DLLME Liu

et al., 2009 (LIU *et al.*, 2009) observaram o mesmo comportamento. O metanol, como podemos observar, exibe melhores recuperações para todos os analitos.

De maneira geral, a combinação [C₆MIM][PF₆] e metanol apresentou os melhores resultados, recuperações acima de 50% foram obtidas para 25 compostos com RSD menores que 14%. O [C₆MIM][PF₆] apresentou 19 e 10 compostos com recuperações acima de 50% quando combinado com acetona e acetonitrila, respectivamente com RSD menores que 15%.

Além da avaliação da recuperação dos analitos, foi realizado também um teste de Tukey comparando-se as áreas dos picos obtidas em cada condição testada (Tabela 21). Genfibrozila, propilparabeno, triclosan e diclorana não apresentaram diferença significativa ($p > 0.05$) nas condições testadas. Quando [C₆MIM][PF₆] foi usado como solvente extrator e metanol como solvente dispersor, propiciou um maior número de analitos com maior resposta significativamente ($p < 0,05$). Considerando os resultados, [C₆MIM][PF₆] e metanol foram escolhidos.

A mistura [C₆MIM][PF₆] e metanol tem sido empregada em diversos trabalhos para extração de compostos orgânicos em diferentes matrizes. Na IL-DLLME, para a extração de agrotóxicos em amostras de água, foram utilizados 40 µL [C₆MIM][PF₆] como solvente extrator e 500 µL de metanol, e as recuperações ficaram entre 79 e 110% com desvios menores que 11% (LIU *et al.*, 2009).

Fármacos também têm sido extraídos com sucesso empregando a mistura [C₆MIM][PF₆] e metanol. Medicamentos herbais chineses conhecidos como Radix et Rhizoma Rhei (aloe-emodina, rein, emodina e crisofanol) foram extraídos empregando a IL-DLLME com 55 µL de [C₆MIM][PF₆] e 400 µL de metanol; atingindo recuperações entre 95 e 109% (ZHANG *et al.*, 2010). Essa mistura também tem sido utilizada com sucesso na extração de 8 agrotóxicos em banana. Os autores utilizaram 150 µL de [C₆MIM][PF₆] e 714 µL de metanol e as recuperações ficaram entre 69 – 97% com desvios menores que 9% (RAVELO-PÉREZ *et al.*, 2009).

Tabela 21 - Resultados em área após extração por IL-DLLME do solvente extrator com diferentes dispersores

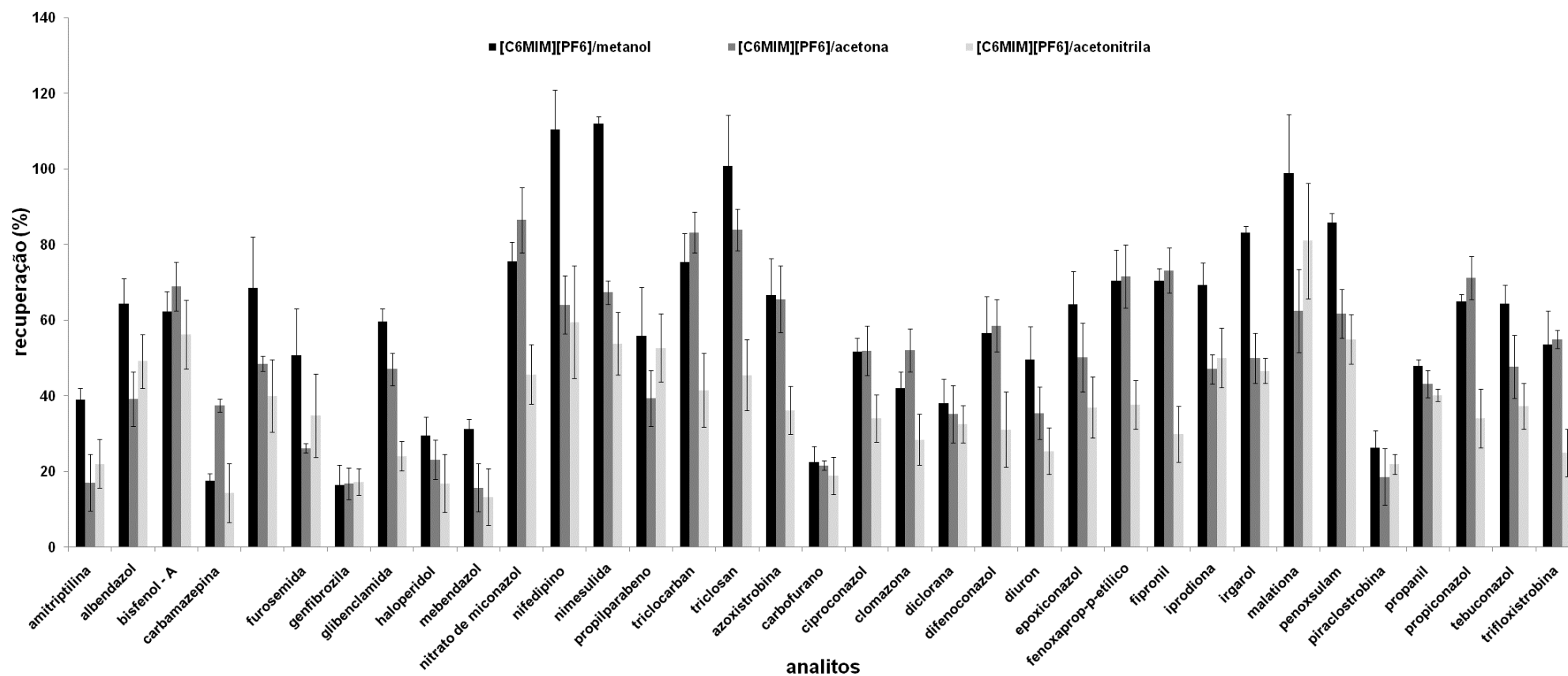
Analitos	[C ₆ MIM][PF ₆]/metanol	[C ₆ MIM][PF ₆]/acetona	[C ₆ MIM][PF ₆]/acetonitrila
PPCPs			

Analitos	[C₆MIM][PF₆]/metanol	[C₆MIM][PF₆]/acetona	[C₆MIM][PF₆]/acetonitrila
amitriptilina	16726 ^a	8026 ^c	10566 ^{a,b}
albendazol	12867 ^a	8002 ^b	7244 ^b
bisfenol - A	42 ^{a,b}	30 ^c	57 ^a
carbamazepina	7290 ^a	400 ^b	4515 ^c
cloridrato de ditalzem	2074 ^a	1425 ^b	1192 ^b
furosemida	239083 ^a	58343 ^c	89500 ^{ab}
genfibrozila	438 ^a	342 ^a	549 ^a
glibenclamida	3228 ^a	1628 ^b	1601 ^b
haloperidol	45264 ^a	35842 ^b	27276 ^c
mebendazol	4111 ^a	3043 ^{ab}	2555 ^b
nitrato de miconazol	2879 ^a	1737 ^b	1814 ^b
nifedipino	10382 ^a	2154 ^c	7835 ^b
nimesulida	12084 ^a	4742 ^c	7846 ^b
propilparabeno	490 ^a	686 ^a	490 ^a
triclocarban	7153 ^a	3633 ^b	7242 ^a
triclosan	607 ^a	686 ^a	490 ^a
Agrotóxicos			
azoxistrobina	27203 ^a	7834 ^b	15406 ^c
carbofurano	6933 ^a	1893 ^b	2599 ^b
ciproconazol	10786 ^a	7773 ^{a,b}	7007 ^b
clomazona	13319 ^a	11726 ^{a,b}	8710 ^b
diclorana	54 ^a	46 ^a	71 ^a
difenoconazol	14758 ^a	5719 ^b	9609 ^c

Analitos	[C₆MIM][PF₆]/metanol	[C₆MIM][PF₆]/acetona	[C₆MIM][PF₆]/acetonitrila
diuron	5476 ^a	4290 ^{a,b}	3167 ^{a,b}
epoxiconazole	23335 ^a	12567 ^{a,b}	11314 ^{a,b}
fenoxaprop-p-etílico	2863 ^a	1449 ^b	1833 ^{a,b}
fipronil	32616 ^a	15456 ^{a,b}	18931 ^b
iprodivona	1777 ^a	1126 ^b	1166 ^b
irgarol	81753 ^a	39916 ^{a,b}	46117 ^{a,b}
malationa	4947 ^a	1859 ^{a,b}	3202 ^{a,b}
penoxsulam	288 ^a	163 ^b	143 ^b
piraclostrobina	6953 ^a	5326 ^b	2397 ^c
propanil	2944 ^a	1752 ^b	1546 ^b
propiconazol	6196 ^a	4069 ^b	2462 ^c
tebuconazol	21711 ^a	17683 ^b	17198 ^b
trifloxistrobina	6433 ^a	2414 ^b	1582 ^c

Médias seguidas por letras iguais, na mesma linha, não apresentam diferença estatística significativa ($p \geq 0,05$) pelo teste de Tukey com significância de 95%. *n.e – não extraído

Figura 19 - Efeito do tipo do solvente extrator e dispersor na IL-DLLME na recuperação de agrotóxicos e PPCPs em água potável. Condições de extração: 10 mL de amostra fortificada com $5 \mu\text{g L}^{-1}$; pH da amostra: 6,3; volume do solvente extrator: 100 μL ; solvente dispersor: 0,5 mL; centrifugação: 5000 rpm por 10 min. As barras de erros indicam valores de RSD



6.6.2. Escolha do volume de solvente extrator

Em técnicas de microextração que utilizam líquidos iônicos como solventes extratores, os volumes de extratores entre 40 a 280 μL normalmente são utilizados (TRUJILLO-RODRÍGUEZ *et al.*, 2013). Neste estudo, foram estudados os volumes de 75, 100 e 150 μL . Como solvente extrator, foi utilizado o $[\text{C}_6\text{MIM}][\text{PF}_6]$ e como dispersor metanol com um volume de 500 μL .

Como podemos observar na Figura 20, quando se utilizou o volume de 75 μL de $[\text{C}_6\text{MIM}][\text{PF}_6]$, a recuperação foi baixa para a maioria dos analitos e para alguns analitos não se obteve recuperações, isso se deve ao fato de que volumes menores de solvente extrator acarreta numa dispersão incompleta deste na amostra aquosa. Com o aumento do volume do $[\text{C}_6\text{MIM}][\text{PF}_6]$ de 75 para 100 μL , aumentou a recuperação para todos os analitos. Entretanto quando se passa de 100 para 150 μL ocorre uma diminuição na recuperação de todos os analitos. Uma provável explicação para esse fato seria que volumes maiores de solvente extrator diminuem a polaridade da amostra aquosa devido à dissolução do solvente extrator na fase aquosa o que leva a diminuição do coeficiente de partição dos analitos o que pode levar ao decréscimo nas recuperações (TOLCHA *et al.*, 2013).

De maneira geral, o volume de 100 μL de $[\text{C}_6\text{MIM}][\text{PF}_6]$ foi o que apresentou os melhores resultados. Recuperações acima de 50% foram obtidas para 32 analitos quando utilizado o volume de 100 μL de $[\text{C}_6\text{MIM}][\text{PF}_6]$ com RSD menores que 12% e quando utilizado 150 μL de $[\text{C}_6\text{MIM}][\text{PF}_6]$ 24 analitos obtiveram recuperações maiores que 50% com RSD menores que 11%. Entranto quando se utiliza um volume de 75 μL de $[\text{C}_6\text{MIM}][\text{PF}_6]$ nenhum composto obteve recuperações maiores que 50%.

Foi realizado um teste de Tukey para todos os resultados obtidos (Tabela 22), e todos compostos apresentaram diferença significativa em suas áreas com os diferentes volumes de solvente extrator. Entretanto estes analitos apresentaram maiores valores de área com 100 μL . Baseado nestes resultados, o valor de 100 μL foi escolhido.

Figura 20 - Efeito do volume do líquido iônico na IL-DLLME na recuperação de agrotóxicos e PPCPs em água potável. Condições de extração: 10 mL de amostra fortificada com $5 \mu\text{g L}^{-1}$; pH da amostra: 6,4; solvente dispersor: 0,5 mL; centrifugação: 5000 rpm por 10 min. As barras de erros indicam valores de RSD

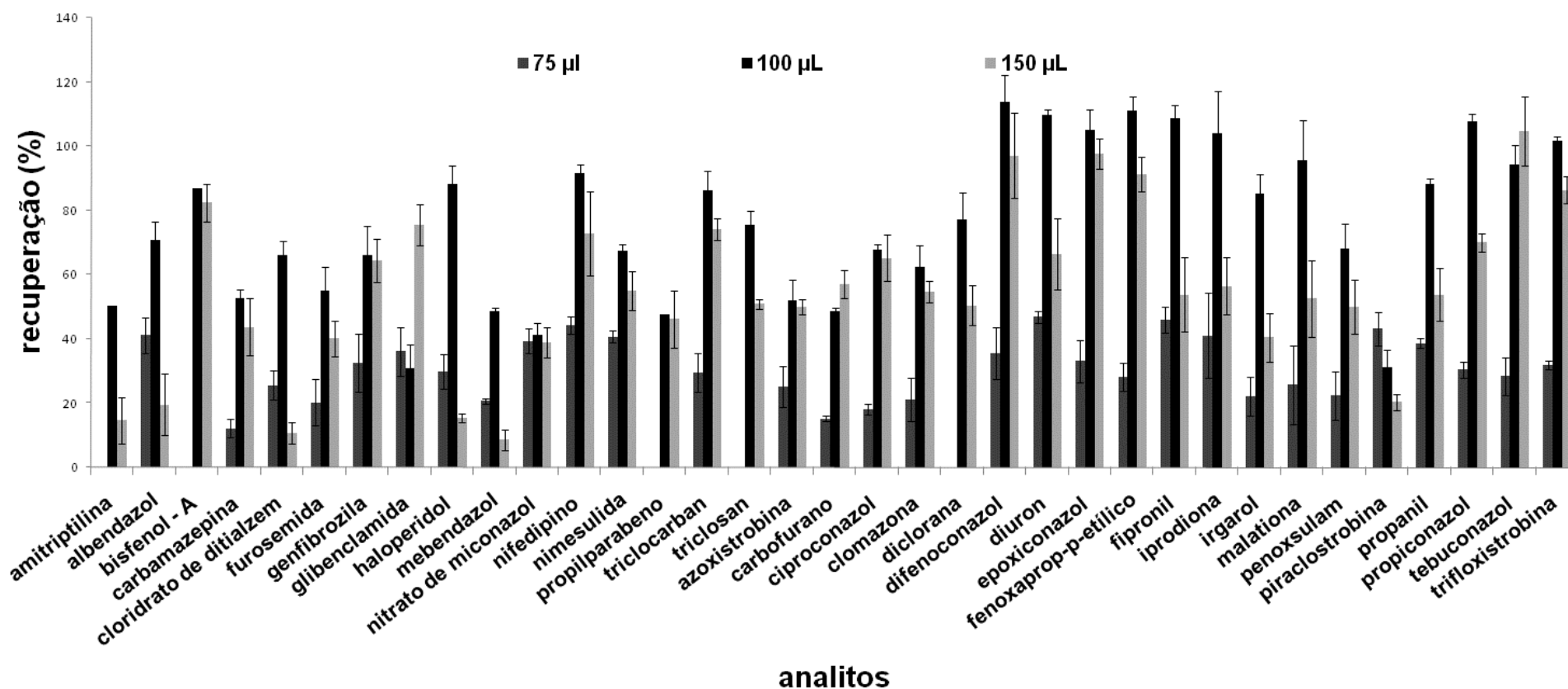


Tabela 22 - Resultados em área após extração por IL-DLLME com diferentes volumes de solvente extrator

Analitos	Volume do solvente extrator		
	75 µL	100 µL	150 µL
PPCPs			
amitriptilina	n.e	8026 ^a	686 ^b
albendazol	2092 ^a	285 ^b	406 ^b
bisfenol - A	n.e	18 ^a	26 ^{a,b}
carbamazepina	1073 ^b	3243 ^a	2611 ^a
cloridrato de ditalzem	36210 ^b	239083 ^a	679 ^b
furosemida	152 ^b	557 ^a	154 ^b
genfibrozila	118 ^b	438 ^a	119 ^b
glibenclamida	521 ^c	3228 ^a	1253 ^b
haloperidol	6745 ^a	1350 ^b	1481 ^b
mebendazol	1133 ^b	4111 ^a	1871 ^b
nitrato de miconazol	6969 ^a	4709 ^a	2315 ^b
nifedipino	1138 ^c	3682 ^a	1952 ^b
nimesulida	1138 ^c	3682 ^a	1952 ^b
propilparabeno	n.e	607 ^a	164 ^b
triclocarban	1708 ^c	5516 ^a	4421 ^b
triclosan	n.e	607 ^a	40 ^b

Analitos	Volume do solvente extrator		
	75 µL	100 µL	150 µL
agrotóxicos			
azoxistrobina	3556 ^c	18517 ^a	16109 ^b
carbofurano	913 ^b	2141 ^a	3025 ^a
ciproconazol	867 ^b	7485 ^b	21921 ^a

clomazona	2590 ^c	7772 ^a	6726 ^b
diclorana	n.e	33 ^c	44 ^b
difenoconazol	2197 ^c	17293 ^a	12766 ^b
diuron	467 ^c	2107 ^a	1313 ^b
epoxiconazol	1500 ^c	17508 ^a	13951 ^b
fenoxaprop-p-etílico	908 ^c	4090 ^a	1454 ^b
fipronil	1796 ^a	547 ^b	632 ^b
iprodiona	341 ^b	633 ^a	366 ^b
irgarol	5308 ^b	81753 ^a	16171 ^b
malationa	2421 ^b	4947 ^a	2535 ^b
penoxsulam	44 ^c	288 ^a	178 ^b
piraclostrobina	1673 ^b	6953 ^a	2397 ^b
propanil	2944 ^a	1931 ^b	200 ^c
propiconazol	2581 ^b	4784 ^a	891 ^c
tebuconazol	1270.22 ^c	10225.55 ^a	6528 ^b
trifloxistrobina	2326 ^c	7208 ^b	33750 ^a

Médias seguidas por letras iguais, na mesma linha, não apresentam diferença estatística significativa ($p \geq 0,05$) pelo teste de Tukey com significância de 95%. *n.e. – não extraído

6.6.3. Escolha do volume de solvente dispersor

Os volumes entre 100 e 1500 μL de solvente dispersor têm sido os mais empregados na IL-DLLME (TRUJILLO-RODRÍGUEZ *et al.*, 2013). Durante a avaliação do volume de solvente dispersor, foram utilizados os volumes de 250, 500 e 1500 μL (Figura 21).

O volume de solvente dispersor afeta diretamente a solubilidade do IL na amostra aquosa e o volume da fase sedimentada. Como pode ser observado na Figura 21, quando se altera o volume do dispersor de 250 para 500 μL a recuperação aumenta para todos os analitos. Entretanto quando o volume passa de 500 para 1500 μL acontece uma diminuição na recuperação para todos os analitos. Isso se deve ao fato que menores volumes de solvente dispersor são insuficientes para a dispersão do solvente extrator na amostra aquosa, resultando numa menor área de contato entre a amostra aquosa e os solventes, acarretando menores recuperações. No entanto, maiores volumes de solvente dispersor podem aumentar a solubilidade dos analitos na amostra aquosa, dificultando o particionamento dos analitos para o solvente de extrator (WU *et al.*, 2013). O mesmo comportamento foi observado no trabalho de (GURE *et al.*, 2015) na determinação de agrotóxicos em vinho utilizando a IL-DLLME.

De maneira geral, o volume de 500 μL de metanol foi o que apresentou os melhores resultados. Recuperações acima de 50% foram obtidas para 32 analitos quando utilizado o volume de 500 μL de metanol com RSD menores que 11%, quando utilizado 1500 μL de metanol 7 analitos obtiveram recuperações maiores que 50% com RSD menores que 12 e o volume de 250 μL de metanol 23 analitos obtiveram recuperações maiores que 50% com RSD menores que 12%.

Além disso, foi realizado um teste de Tukey para todos os resultados obtidos (Tabela 23). Todos os analitos apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) com a mudança no volume do solvente dispersor, sendo que no volume de 500 μL , todos os analitos apresentaram maiores valores de área. Baseado nestes resultados, o valor de 500 μL foi escolhido.

Figura 21 - Efeito do volume do solvente dispersor na IL-DLLME na recuperação de agrotóxicos e PPCPs em água potável. Condições de extração: 10 mL de amostra fortificada com $5 \mu\text{g L}^{-1}$; pH da amostra: 6,4; solvente extrator: $100 \mu\text{L}$; centrifugação: 5000 rpm por 10 min. As barras de erros indicam valores de RSD

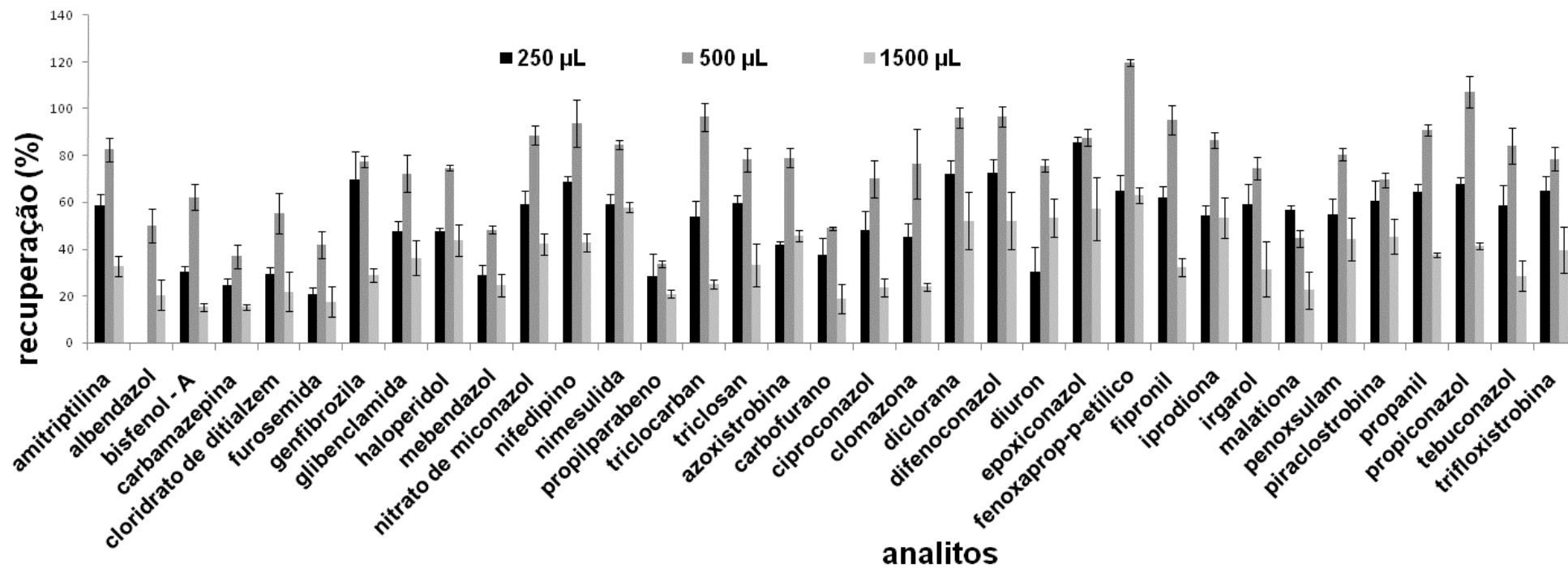


Tabela 23 - Resultados em área após extração por IL-DLLME com diferentes volumes de solvente dispersor

Analitos	Volume do solvente dispersor		
	250 µL	500 µL	1500 µl
PPCPs			
amitriptilina	878 ^b	8026 ^a	259 ^b
albendazol	n.e ^b	3563 ^a	1476 ^c
bisfenol - A	15 ^b	30 ^a	21 ^b
carbamazepina	2512 ^b	3114 ^a	1269 ^c
cloridrato de ditiazem	53457 ^b	78967 ^a	30011 ^c
furosemida	342 ^{ab}	437 ^a	251 ^b
genfibrozila	244 ^a	283 ^a	172 ^b
glibenclamida	2030 ^b	2478 ^a	1639 ^c
haloperidol	12749 ^b	16834 ^a	4869 ^c
mebendazol	1431 ^b	2705 ^a	1223 ^b
nitrate de miconazol	5709 ^a	5565 ^a	3262 ^b
nifedipino	816 ^c	3270 ^a	1689 ^b
nimesulida	1708 ^b	2346 ^a	1697 ^b
propilparabeno	451 ^b	540 ^a	215 ^c
triclocarban	2761 ^b	4579 ^a	1354 ^c
triclosan	57 ^b	108 ^a	40 ^b
Agrotóxicos			
azoxistrobina	5886 ^b	12258 ^a	6287 ^b
carbofurano	2236 ^b	2777 ^a	1050 ^c
ciproconazol	2285 ^b	3246 ^a	847 ^c
clomazona	5518 ^b	6636 ^a	2750 ^c
diclorana	19 ^c	36 ^a	36 ^{ab}
difenoconazol	3303 ^b	4839 ^a	2543 ^b
diuron	1159 ^a	1130 ^a	306 ^b
epoxiconazol	3170 ^b	5803 ^a	2590 ^b
fenoxaprop-p-etílico	1424 ^b	2355 ^a	1227 ^b

Analitos	Volume do solvente dispersor		
	250 µL	500 µL	1500 µl
fipronil	3784 ^a	4514 ^a	2386 ^b
iprodiona	347 ^b	526 ^a	355 ^b
irgarol	13654 ^a	13345 ^a	7706 ^b
malationa	6593 ^a	7090 ^a	2700 ^b
penoxsulam	138 ^a	170 ^a	71 ^b
piraclostrobina	3987 ^a	3816 ^a	2391 ^b
propanil	271 ^b	409 ^a	171 ^c
propiconazol	1821 ^b	3276 ^a	1053 ^c
tebuconazol	3139 ^a	3447 ^a	1214 ^b
trifloxistrobina	4601 ^b	5433 ^a	2703 ^c

M

médias seguidas por letras iguais, na mesma linha, não apresentam diferença estatística significativa ($p \geq 0,05$) pelo teste de Tukey com significância de 95%.

*n.e. – não extraído

6.6.4. Efeito do pH

O efeito do pH na extração dos analitos é dependente das características dos analitos em estudo. Maiores recuperações são obtidas quando o analito está presente na forma não ionizada (YAO *et al.*, 2011).

O efeito do pH foi estudado nos valores de pH 2, 4 e 6.3 (o pH da água da torneira). Não foram testados pHs maiores, porque durante a otimização da DLLME-SFO observou-se que em maiores valores de pH já ocorre uma diminuição da recuperação desses compostos.

Na Figura 22, podemos observar que para os analitos albendazol (pKa 4,27), carbamazepina (pKa 3,8) e nifedipino (pKa 5,33) um aumento do pH de 2,0 para 4,0 acarreta na recuperação desses compostos.

Se observarmos os agrotóxicos de um modo geral, também podemos observar que o aumento de pH de 2 para 4, levou a um aumento na recuperação para todos os compostos, porém quando se passa de pH 4 para 6 ocorre uma diminuição na recuperação para todos os compostos.

Cabe salientar, que a amostra em pH 4 foi que apresentou os melhores resultados. Recuperações acima de 50% foram obtidas para 34 compostos quando utilizado pH da amostra em 4 com RSD menores que 9%, 8 compostos obtiveram recuperações maiores que 50% com RSD menores que 7 quando utilizado o pH da amostra em 2, amostra em pH 6 recuperações acima de 50% foram obtidas para 18 compostos.

Foi realizado um teste estatístico para avaliar a presença de diferenças significativas entre os valores de área com a variação do pH da amostra. A maioria dos compostos apresentaram diferença significativa ($p > 0.05$) com exceção da iprodiona e propanil. Entretanto em pH 4, um elevado número de compostos com maiores áreas significativas ($p > 0.05$) foram encontrados. Como o objeto do trabalho é escolher uma condição ótima para extrair agrotóxicos e PPCPs simultaneamente, o pH 4 foi selecionado.

Figura 22 - Efeito do pH da amostra na IL-DLLME na recuperação de agrotóxicos e PPCPs em água potável. Condições de extração: 10 mL de amostra fortificada com $5 \mu\text{g L}^{-1}$; solvente extrator: $100 \mu\text{L}$; solvente dispersor: $500 \mu\text{L}$; centrifugação: 5000 rpm por 10 min. As barras de erro indicam valores de RSD

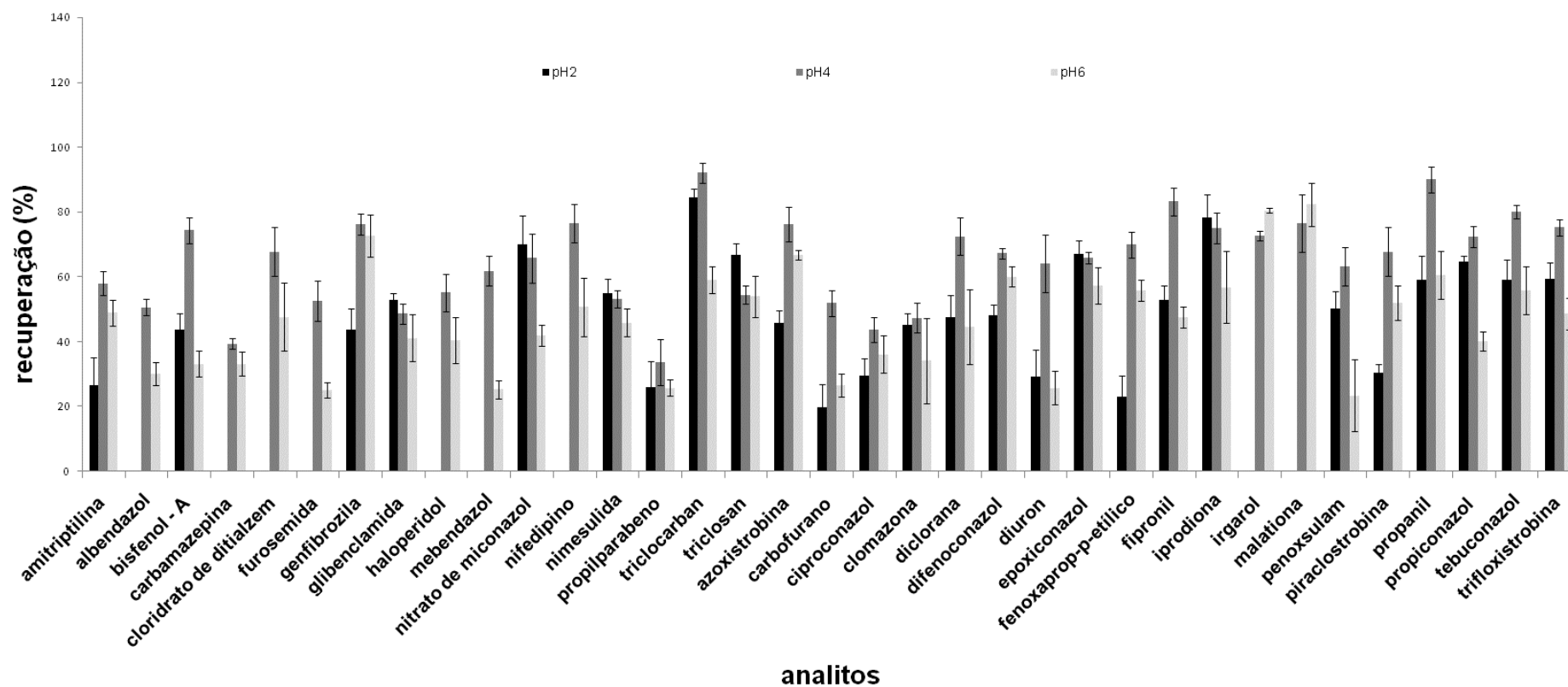


Tabela 24 - Resultados em área após extração por IL-DLLME em diferentes valores de pH

analito	pH		
	pH 2	pH 4	pH 6
PPCPs			
amitriptilina	3283 ^b	6604 ^a	2809 ^b
albendazol	3283 ^{a,b}	8026 ^a	259 ^b
bisfenol - A	51 ^b	121 ^a	55 ^{a,b}
carbamazepina	640 ^b	7680 ^a	6552 ^b
cloridrato de ditiazem	1510 ^b	32730 ^a	2350 ^b
furosemida	34 ^b	1139 ^a	325 ^b
genfibrozila	65 ^c	1262 ^a	486 ^b
glibenclamida	1762 ^b	2826 ^a	1428 ^c
haloperidol	29988 ^a	27577 ^a	22978 ^b
mebendazol	2392 ^c	10378 ^a	8480 ^b
nitrito de miconazol	15218 ^a	3902 ^b	11146 ^c
nifedipino	1708 ^b	2346 ^a	1697 ^b
nimesulida	7700 ^a	7436 ^{a,b}	6730 ^b
propilparabeno	1287 ^a	1426 ^a	143 ^b
triclocarban	55 ^a	47 ^b	24 ^c
triclosan	7392 ^a	6094 ^b	6107 ^b
agrotóxicos			
azoxistrobina	6148 ^c	10687 ^a	9135 ^b
carbofurano	3316 ^b	4913 ^a	4421 ^a
ciproconazol	5265 ^c	5821 ^b	6752 ^a
clomazona	18085 ^a	16027 ^a	8771 ^a
diclorana	44 ^a	46 ^b	42 ^c
difenoconazol	15501 ^a	15543 ^a	7122 ^b
diuron	1547 ^b	2030 ^a	1417 ^b
epoxiconazol	18422 ^a	17738 ^a	15464 ^b
fenoxaprop-p-etílico	1212 ^c	2527 ^b	2862 ^a
fipronil	10111 ^b	11592 ^a	9682 ^b
iprodiona	2563 ^a	2141 ^a	2200 ^a
irgarol	3819 ^b	10027 ^a	1132 ^b
malationa	340 ^c	1258 ^a	701 ^b
penoxsulam	748 ^a	748 ^a	292 ^b
piraclostrobina	444 ^c	3431 ^a	2778 ^b
propanil	2561 ^a	3334 ^a	2428 ^a
propiconazol	7175 ^a	7579 ^a	5100 ^b
tebuconazol	10820 ^a	10415 ^a	7554 ^b
trifloxistrobina	6500 ^a	5868 ^b	1276 ^c

Médias seguidas por letras iguais, na mesma linha, não apresentam diferença estatística significativa ($p \geq 0,05$) pelo teste de Tukey com significância de 95%.

6.6.5. Adição de sal

Na microextração líquido-líquido convencional, a adição de sal pode facilitar na partição dos analitos para a fase orgânica. No entanto, a adição do sal pode ter diferentes efeitos quando os líquidos iônicos são utilizados como solventes extratores (LIU *et al.*, 2009).

Neste estudo, foram testados os sais sulfato de magnésio (MgSO_4) e sulfato de amônio $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, todos na concentração de 1% (m/v), para avaliar o efeito da força iônica de diferentes sais na recuperação dos compostos (Figura 23). Após a adição do sal na amostra aquosa, o pH foi ajustado para 4.

A adição do MgSO_4 e $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ não produziu nenhuma diferença significativa ($p > 0,05$) (tabela 25) para os compostos azoxistrobina, carbofurano, ciproconazol, difeconazol, piraclostrobina e propanil. No entanto, para os compostos albendazol, cloridrato de ditalzem, furasemida, mebendazol, irgarol, diuron e trifloxistrobina, a presença de sais resultou em uma diminuição significativa na recuperação. Para os demais compostos, a ausência de sal apresentou recuperações maiores ou similares quando na presença de sal. Portanto, a utilização de sal foi preterida.

Figura 23 - Efeito do sal na amostra na IL-DLLME na recuperação de agrotóxicos e PPCPs em água potável. Condições de extração: 10 mL de amostra fortificada com $5 \mu\text{g L}^{-1}$; pH da amostra:4; solvente extrator: 100 μL ; solvente dispersor: 500 μL ; centrifugação: 5000 rpm por 10 min. As barras de erros indicam valores de RSD

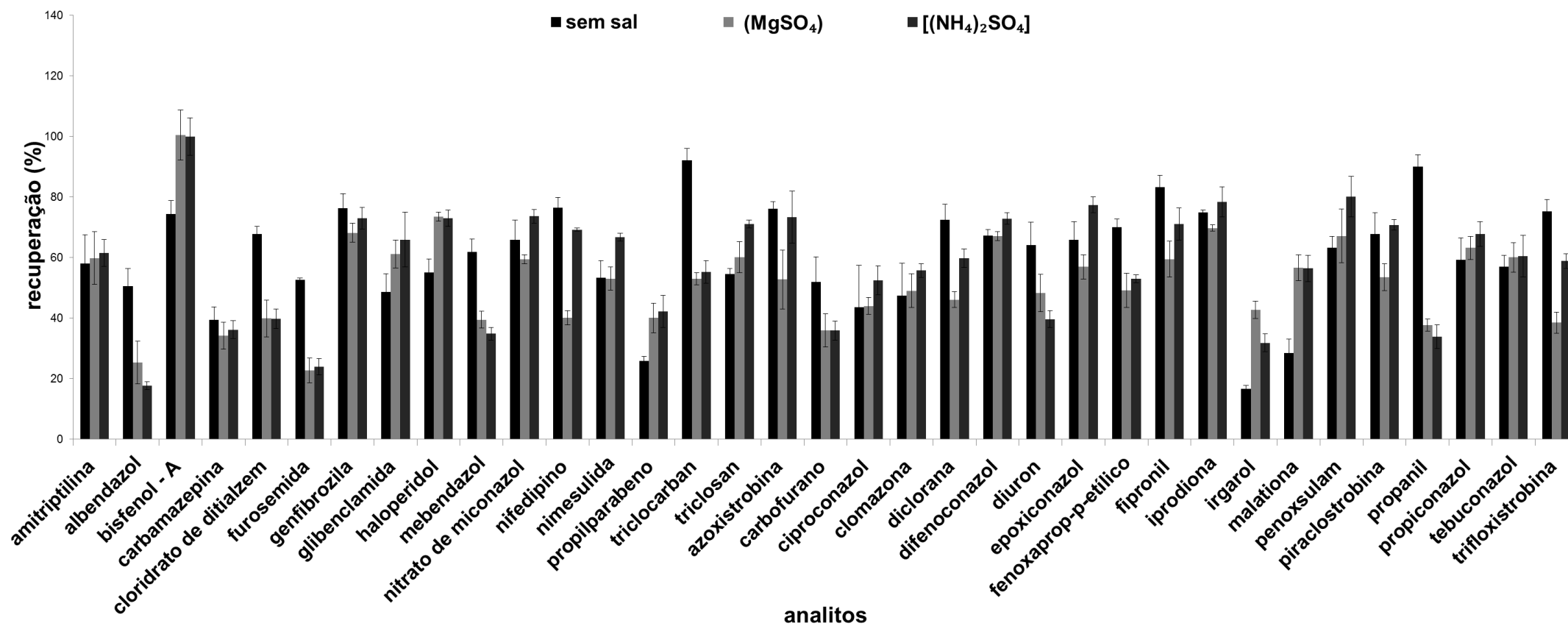


Tabela 25 - Resultados em área após extração por IL-DLLME com diferentes sais

Analitos	Tipo de sal		
	Sem sal	(MgSO ₄)	[(NH ₄) ₂ SO ₄]
PPCPs			
amitriptilina	3283 ^b	6604 ^a	2809 ^b
albendazol	6175 ^c	8899 ^a	13022 ^b
bisfenol - A	89 ^a	114 ^a	107 ^a
carbamazepina	11892 ^a	11369 ^a	6588 ^b
cloridrato de ditiazem	189437 ^b	197578 ^b	219217 ^a
furosemida	2266 ^a	2431 ^a	1810 ^b
genfibrozila	1574 ^a	1476 ^{ab}	1384 ^b
glibenclamida	3687 ^a	3312 ^a	2290 ^b
haloperidol	44931 ^b	55456 ^a	54426 ^a
mebendazol	10147 ^b	11490 ^a	10330 ^b
nitrito de miconazol	12399 ^b	17908 ^a	18669 ^a
nifedipino	1758 ^b	1331 ^b	2645 ^a
nimesulida	10973 ^a	5988 ^c	8326 ^b
propilparabeno	1636 ^b	1473 ^c	1822 ^a
triclocarban	9440 ^b	10683 ^a	7184 ^c
triclosan	92 ^b	125 ^a	126 ^a
agrotóxicos			
azoxistrobina	11763 ^a	12116 ^a	12889 ^a
carbofurano	6342 ^a	5682 ^a	5787 ^a
ciproconazol	9439 ^a	9546 ^a	9939 ^a
clomazona	17636 ^b	20247 ^a	19047 ^{ab}

Analitos	Tipo de sal		
	Sem sal	(MgSO ₄)	[(NH ₄) ₂ SO ₄]
diclorana	3178 ^b	4358 ^a	3862 ^{ab}
difenoconazol	22980 ^a	21456 ^a	21085 ^a
diuron	2571 ^a	1869 ^b	2531 ^a
epoxiconazol	22071 ^a	15926 ^b	21699 ^a
fenoxaprop-p-etílico	4129 ^a	3348 ^b	2767 ^c
fipronil	14057 ^a	11198 ^b	15032 ^a
iprodivona	2737 ^b	3194 ^{ab}	3722 ^a
irgarol	43415 ^a	42582 ^a	38390 ^b
malationa	2474 ^c	4295 ^a	3625 ^b
penoxsulam	1126 ^a	1145 ^a	880 ^b
piraclostrobina	6143 ^a	6432 ^a	7269 ^a
propanil	4511 ^a	4580 ^a	4150 ^a
propiconazol	13095 ^a	8731 ^b	12549 ^a
tebuconazol	5838 ^b	12362 ^a	13363 ^a
trifloxistrobina	6040 ^b	6282 ^b	9482 ^a

6.7. Procedimento experimental desenvolvido para a extração dos agrotóxicos e PPCPS por IL-DLLME

O procedimento otimizado baseou-se na injeção da mistura de 100 µL de [C₆MIM][PF₆] como solvente extrator e 500 µL de metanol como solvente dispersor em 10 mL de amostra aquosa com pH 4. No momento da mistura, uma solução turva é formada e as microgotas do solvente extrator são dispersas na fase aquosa. Após, a solução é centrifugada por 10 minutos a 4000 rpm. Posteriormente, a gota sedimentada foi retirada com o auxílio de

uma seringa e transferida para um tubo eppendorf de 2 mL e o volume ajustado para 500 μL com metanol. Esse procedimento foi executado para diminuir a viscosidade do solvente antes da injeção no sistema cromatográfico. Logo após, o extrato foi transferido para inserts de vidro e injetado no sistema cromatográfico.

6.7.1. Validação do método empregando IL-DLLME e LC-MS/MS

6.7.1.1. Limite de detecção e quantificação

Os limites de detecção e quantificação foram estimados conforme descrito na validação para DLLME-SFO (item 5.4.1).

Tabela 26 - Limite de detecção instrumental (LODi), Limite de Quantificação instrumental (LOQi), limite de detecção do método (LODm) e limite de quantificação do método (LOQm)

analitos	LOD _i ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LOQ _i ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LOD _m ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LOQ _m ($\mu\text{g L}^{-1}$)
PPCPs				
amitriptilina	16	50	0,8	2,5
albendazol	16	50	0,8	2,5
bisfenol - A	16	50	0,8	2,5
carbamazepina	3	10	0,1	0,5
cloridrato de ditalzem	16	50	0,8	2,5
furosemida	16	50	0,8	2,5
genfibrozila	16	50	0,8	2,5
glibenclamida	16	50	0,8	2,5
haloperidol	16	50	0,8	2,5
mebendazol	3	10	0,1	0,5
nitrato de miconazol	3	10	0,1	0,5

analitos	LOD_i (µg L⁻¹)	LOQ_i (µg L⁻¹)	LOD_m (µg L⁻¹)	LOQ_m (µg L⁻¹)
nifedipino	16	50	0,8	2,5
nimesulida	16	50	0,8	2,5
propilparabeno	3	10	0,1	0,5
triclocarban	16	50	0,8	2,5
triclosan	16	50	0,8	2,5
Agrotóxicos				
azoxistrobina	3	10	0,1	0,5
carbofurano	3	10	0,1	0,5
ciproconazol	3	10	0,1	0,5
clomazona	3	10	0,1	0,5
diclorana	16	50	0,8	2,5
difenoconazol	16	50	0,8	2,5
diuron	3	10	0,1	0,5
epoxiconazol	3	10	0,1	0,5
fenoxaprop-p-etílico	16	50	0,8	2,5
fipronil	3	10	0,1	0,5
iprodiona	3	10	0,1	0,5
irgarol	16	50	0,8	2,5
malationa	16	50	0,8	2,5
penoxsulam	16	50	0,8	2,5
piraclostrobina	16	50	0,8	2,5
propanil	16	50	0,8	2,5
propiconazol	16	50	0,8	2,5
tebuconazol	16	50	0,8	2,5
trifloxistrobina	16	50	0,8	2,5
diuron-d6	3	10	0,1	0,5
carbofurano-d3	3	10	0,1	0,5

Os valores de LOQ_i para todos os analitos variaram entre 10 e 50 µg L⁻¹ (Tabela 26). Definidos os LOQs instrumentais, as amostras de água foram

fortificadas em concentração equivalente para verificar a eficiência de extração nestes níveis. Uma vez alcançados valores de R (%) entre 70 e 120% com RSDs inferiores a 20%, os valores de LOQm ficaram entre 0,5 e 2,5 $\mu\text{g L}^{-1}$.

Com relação aos agrotóxicos, os valores de LOQ são inferiores aos limites máximos de resíduos (LMR) permitidos pela legislação brasileira que é de 7 $\mu\text{g L}^{-1}$ para o carbofurano, 90 $\mu\text{g L}^{-1}$ para o diuron e 180 $\mu\text{g L}^{-1}$ para o tebuconazol (BRASIL, 2011), nesta portaria apenas os agrotóxicos citados dentre os 19 agrotóxicos selecionados para este estudo estão registrados.

No que se refere a Portaria Estadual 320/2014 os agrotóxicos difenoconazol, epoxiconazol, fenoxaprop-p-etílico e fipronil selecionados neste estudo estão registrados. Os LMR para esses agrotóxicos variam de 1,2 a 60 $\mu\text{g L}^{-1}$ (RS, 2014). Os valores de LOQs encontrados para os agrotóxicos nesse estudo são inferiores aos LMR permitidos pela portaria estadual.

Em relação à legislação europeia os LMRs para a soma total de agrotóxicos em amostras de água é de 0,5 $\mu\text{g L}^{-1}$ (EU, 1998), estando os LOQs desse trabalho dentro desse valor, exceto para os compostos diclorana, difeconazol, fenaxaprop-p-etílico, irgarol, malationa, penoxsulam, piraclostribina, propanil, propiconazol, tebuconazol e trifloxistrobina os quais os LOQs foram de 2,5 $\mu\text{g L}^{-1}$.

Na Tabela 27, é apresentada uma comparação entre os LOQm dos agrotóxicos com os LMR estabelecidos pelas Portaria MS nº 2914, Portaria RS/SES Nº 320 e legislação da União Europeia.

Tabela 27 - Comparação entre os LOQm dos agrotóxicos na IL – DLLME com os limites regulamentados pela Portaria RS/SES nº 320, Portaria MS nº2914 e a legislação da União Europeia

Analitos	LMR ($\mu\text{g L}^{-1}$)			
	LOQm ($\mu\text{g L}^{-1}$) IL-DLLME	Portaria RS/SES Nº 320 de 24/04/2014	Portaria MS nº 2914/ Brasil	União Europeia Soma total de agrotóxicos
carbofurano	0,5	n.c	7	0,5
diuron	0,5	n.c	90	
tebuconazol	2,5	n.c	180	
difenoconazol	2,5	60	n.c	
epoxiconazol	0,5	18	n.c	
fenoxaprop-etílico	2,5	15	n.c	
fipronil	0,5	1,2	n.c	

*n.c – não contempla

Cabe salientar, que ainda não existem legislações nacionais e internacionais para PPCPs em amostras de água. Além disso, os LOQs apresentados na Tabela 24 foram semelhantes ou inferiores aos obtidos em outras aplicações de IL-DLLME (ZHANG, Y. *et al.*, 2012; GE *et al.*, 2013)

6.7.1.2. Curva analítica e linearidade

A faixa linear de todas as curvas analíticas (curva no solvente, curva na matriz e curva trabalho) foi realizada conforme descrito na DLLME-SFO (item 5.4.1).

Os resultados para as curvas analíticas preparadas no solvente e no extrato podem ser observadas na Tabela 28. Os coeficientes de correlação (r) variaram entre 0,9914 e 0,9999, estando de acordo com os valores recomendados segundo as orientações da ANVISA ($r \geq 0,99$) e INMETRO ($\geq 0,90$) para todos os analitos na faixa entre o LOQi e $1000 \mu\text{g L}^{-1}$.

Tabela 28 - Resultados obtidos para as curvas analíticas

Analitos	Faixa linear ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Curva analítica no solvente	r	Curva analítica no extrato da matriz	r
PPCPs					
amitriptilina	50 – 1000	$y = 105817x - 246.59$	0.9996	$y = 86525x - 1008.1$	0.9997
albendazol	50 – 1000	$y = 533150x + 6761.3$	0.9981	$y = 155409x - 2618.4$	0.9993
bisfenol - A	50 – 1000	$y = 1448.3x + 74.866$	0.9939	$y = 1315.4x + 27.958$	0.9988
carbamazepina	10 – 1000	$y = 284148x + 3244.7$	0.9993	$y = 228100x - 1040.7$	0.9991
cloridrato de ditalzem	10 – 1000	$y = 217669x + 1652.5$	0.9984	$y = 155905x - 4527.9$	0.9951
furosemida	50 - 1000	$y = 31920x + 159.1$	0.9997	$y = 26058x - 611.77$	0.9953
genfibrozila	50 – 1000	$y = 21093x + 544.79$	0.9988	$y = 19173x - 155.03$	0.9996
glibenclamida	50 – 1000	$y = 47900x + 556.34$	0.9996	$y = 41530x - 765.79$	0.9993
haloperidol	50 – 1000	$y = 555340x + 14865$	0.9944	$y = 435016x - 2921.4$	0.9965
mebendazol	10 – 1000	$y = 295820x + 2374.8$	0.999	$y = 248359x - 1939.5$	0.9995
nitrate de miconazol	10 – 1000	$y = 150768x - 761.35$	0.9994	$y = 147611x - 2460.8$	0.9989
nifedipino	50 – 1000	$y = 35851x - 875.21$	0.9965	$y = 35768x - 1456.7$	0.9917
nimesulida	50 - 1000	$y = 62516x + 5188$	0.9904	$y = 63877x + 1214.8$	0.9919
propilparabeno	10 – 1000	$y = 37044x + 1353.2$	0.9931	$y = 30325x + 505.83$	0.9971

Analitos	Faixa linear ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Curva analítica no solvente	r	Curva analítica no extrato da matriz	r
triclocarban	50 – 1000	$y = 105111x + 4158.3$	0.9981	$y = 99013x - 1463.3$	0.998
triclosan	50 - 1000	$y = 1514.9x + 3.5007$	0.9946	$y = 1085.4x - 13.272$	0.9997
agrotóxicos					
azoxistrobina	10 – 1000	$y = 349993x + 1509.3$	0.9995	$y = 221454x - 5334.5$	0.9967
Carbofurana	10 – 1000	$y = 284094x + 4283.7$	0.9986	$y = 169818x + 11.22$	0.9999
ciproconazol	10 – 1000	$y = 115826x + 106.26$	0.998	$y = 94030x - 325.98$	0.9997
clomazona	10 – 1000	$y = 449535x + 8023.8$	0.9986	$y = 344387x - 1801.7$	0.9994
diclorana	50 – 1000	$y = 1977x + 55.354$	0.9987	$y = 1496.8x - 16.029$	0.9995
difenoconazol	50 -1000	$y = 303289x + 6291.5$	0.9995	$y = 265085x - 4726.5$	0.999
diuron	10 – 1000	$y = 44133x + 744.64$	0.9972	$y = 33791x + 41.586$	0.9997
epoxiconazole	10 – 1000	$y = 241974x + 2509.5$	0.9992	$y = 201343x - 2119.8$	0.9992
fenoxaprop-p-etílico	50 – 1000	$y = 83721x + 2605.3$	0.9994	$y = 75106x - 1385.1$	0.9979
fipronil	10 – 1000	$y = 183647x + 2696.3$	0.9954	$y = 150456x - 864.97$	0.9996
iprodiona	10 – 1000	$y = 47045x + 706.21$	0.9986	$y = 36848x - 490.24$	0.9993
irgarol	50 - 1000	$y = 1E+06x + 3167.9$	0.9987	$y = 852511x - 23118$	0.9979
malationa	50 -1000	$y = 228987x + 4467.7$	0.9972	$y = 197237x - 2374.1$	0.9914

Analitos	Faixa linear ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Curva analítica no solvente	r	Curva analítica no extrato da matriz	r
penoxsulam	50 –1000	$y = 10583x + 597.99$	0.9901	$y = 7582.9x - 72.213$	0.9999
piraclostrobina	50 –1000	$y = 111679x + 1530.2$	0.9996	$y = 91457x - 1483.5$	0.9975
propanil	50 –1000	$y = 81483x + 5243.3$	0.994	$y = 72974x - 1866$	0.9958
propiconazol	50 –1000	$y = 130660x + 1830$	0.9999	$y = 108460x - 876.93$	0.9999
tebuconazol	50 -1000	$y = 125507x + 2530.7$	0.9989	$y = 101851x - 281.53$	0.9989
trifloxistrobina	50 –1000	$y = 161855x + 3533.2$	0.9989	$y = 144828x - 2072.4$	0.9964

A linearidade do método foi avaliada usando uma curva trabalho em que as amostras eram fortificadas com um mistura padrão contendo todos os analitos em cinco concentrações variando desde o limite de quantificação a $50 \mu\text{g L}^{-1}$. Depois da fortificação, as amostras foram extraídas e injetada em triplicata, e todas as curvas apresentaram valores de $r > 0,99$, indicando uma excelente linearidade do método. Os resultados para as curvas trabalho podem ser observadas na Tabela 29.

Tabela 29 - Resultados obtidos para as curvas trabalho

Analitos	Faixa linear ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Curva trabalho	r
<i>PPCPs</i>			
amitriptilina	2,5 - 50	$y = 19290x + 962,7$	0,9908
albendazol	2,5 - 50	$y = 702,18x + 31,256$	0,9946
bisfenol - A	2,5 - 50	$y = 384,56x + 47,21$	0,9933
carbamazepina	0,5 - 50	$y = 23236x + 811,5$	0,9930
cloridrato de ditiazem	2,5 - 50	$y = 33179x - 987,04$	0,9995
furosemida	2,5 - 50	$y = 31920x + 159,1$	0,9997
genfibrozila	2,5 - 50	$y = 6974,7x + 113,94$	0,9991
glibenclamida	2,5 - 50	$y = 10981x - 342,38$	0,9935
haloperidol	2,5 - 50	$y = 114856x + 4614$	0,9974
mebendazol	0,5 - 50	$y = 13829x + 56,71$	0,9935
nitrato de miconazol	0,5 - 50	$y = 16477x + 111,99$	0,9994
nifedipino	2,5 - 50	$y = 1630x - 81,85$	0,9966
nimesulida	2,5 - 50	$y = 19942x + 679,89$	0,9996
propilparabeno	0,5 - 50	$y = 1632,9x + 9,6161$	0,9931
triclocarban	2,5 - 50	$y = 10914x - 142,72$	0,9981
triclosan	2,5 - 50	$y = 1288,3x - 15,125$	0,9994
<i>agrotóxicos</i>			
azoxistrobina	0,5 - 50	$y = 78900x + 706,78$	0,9995
Carbofurano	0,5 - 50	$y = 284094x + 4283,7$	0,9986
ciproconazol	0,5 - 50	$y = 14461x + 23,126$	0,9985
clomazona	0,5 - 50	$y = 48144x - 97,705$	0,9998
diclorana	2,5 - 50	$y = 298,62x + 9,4099$	0,9987
difenoconazol	2,5 - 50	$y = 35367x - 450,79$	0,9981
diuron	0,5 - 50	$y = 3453,6x + 390,21$	0,9913
epoxiconazol	0,5 - 50	$y = 32789x - 719,46$	0,9915
fenoxaprop-p-etílico	2,5 - 50	$y = 11007x - 435,77$	0,9957
fipronil	0,5 - 50	$y = 20857x + 573,24$	0,9975
iprodiona	0,5 - 50	$y = 2388,9x - 13,167$	0,9978
irgarol	2,5 - 50	$y = 631,24x - 11,94$	0,9969

Analitos	Faixa linear ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Curva trabalho	r
malationa	2,5 - 50	$y = 281,22x - 5,7583$	0,9993
penoxsulam	2,5 - 50	$y = 670,54x - 0,3937$	0,9997
piraclostrobina	2,5 - 50	$y = 11163x - 165,2$	0,9973
propanil	2,5 - 50	$y = 1119,4x + 4,769$	0,9992
propiconazol	2,5 - 50	$y = 6247,2x + 66,069$	0,9995
tebuconazol	2,5 - 50	$y = 10554x - 211,6$	0,9932
trifloxistrobina	2,5 - 50	$y = 39899x - 1950,2$	0,9964

6.7.1.3. Exatidão e precisão

A exatidão e a precisão foram realizadas conforme descrito na DLLME-SFO (5.4.1). Conforme apresentados na Tabela 30, as recuperações ficaram na faixa de 70 a 120% para a repetibilidade, para todos os compostos. Para a precisão intermediária, o mesmo comportamento foi realizado.

Os padrões de recuperações diuron-d6 e carbofurano-d3 também foram avaliados, na concentração correspondente ao LOQ. Recuperações ficaram entre 70 e 100% com RSD (%) inferiores a 10% foram obtidos.

Tabela 30 - Recuperações e desvio padrão relativo (RSD) para as amostras de água fortificadas em diferentes níveis

analitos	REPETIBILIDADE						PRECISÃO INTERMEDIÁRIA					
	LOQ		5LOQ		10LOQ		LOQ		5LOQ		10LOQ	
	R	RSD	R	RSD	R	RSD	R	RSD	R	RSD	R	RSD
	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)
PPCPs												
amitriptilina	95	6	70	10	75	5	81	8	73	7	71	4
albendazol	80	5	116	7	120	1	75	8	80	6	76	5
bisfenol - A	98	7	75	8	72	9	76	10	70	6	72	9
carbamazepina	115	2	113	11	70	7	102	5	95	3	80	9
cloridrato de ditiazem	80	7	76	4	85	15	72	13	82	9	76	6
furosemida	120	7	109	6	113	8	82	7	75	9	98	11
genfibrozila	100	8	80	1	97	2	76	3	79	6	74	7
glibenclamida	84	2	80	5	70	8	120	2	87	7	74	8
haloperidol	120	3	100	6	120	10	95	4	80	6	75	9
mebendazol	120	7	100	8	100	5	120	9	105	5	105	7
nitrato de miconazol	100	15	120	5	100	13	100	9	120	5	100	9
nifedipino	120	9	110	8	80	5	110	6	120	9	110	6

analitos	REPETIBILIDADE						PRECISÃO INTERMEDIÁRIA					
	LOQ		5LOQ		10LOQ		LOQ		5LOQ		10LOQ	
	R	RSD	R	RSD	R	RSD	R	RSD	R	RSD	R	RSD
	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)
nimesulida	100	7	105	9	80	9	80	7	85	6	90	4
propilparabeno	105	14	73	10	80	7	110	10	105	5	80	7
triclocarban	80	2	120	6	97	5	90	8	110	9	85	5
triclosan	118	2	120	8	100	2	120	10	105	9	107	15
agrotóxicos												
azoxistrobina	100	9	120	8	100	3	70	11	80	8	70	6
carbofurano	80	6	75	9	90	8	120	10	85	3	80	9
ciproconazol	80	6	75	9	90	8	120	10	85	4	80	11
clomazona	97	8	120	4	100	3	90	6	98	3	76	5
diclorana	100	7	80	5	72	3	100	4	80	8	120	9
difenoconazol	100	10	120	15	80	16	99	15	120	8	100	16
diuron	80	14	85	10	70	9	82	17	90	5	92	9
epoxiconazol	100	13	120	12	100	18	90	13	95	8	85	9
fenoxaprop-p-etílico	100	8	90	11	91	5	95	10	90	6	80	7

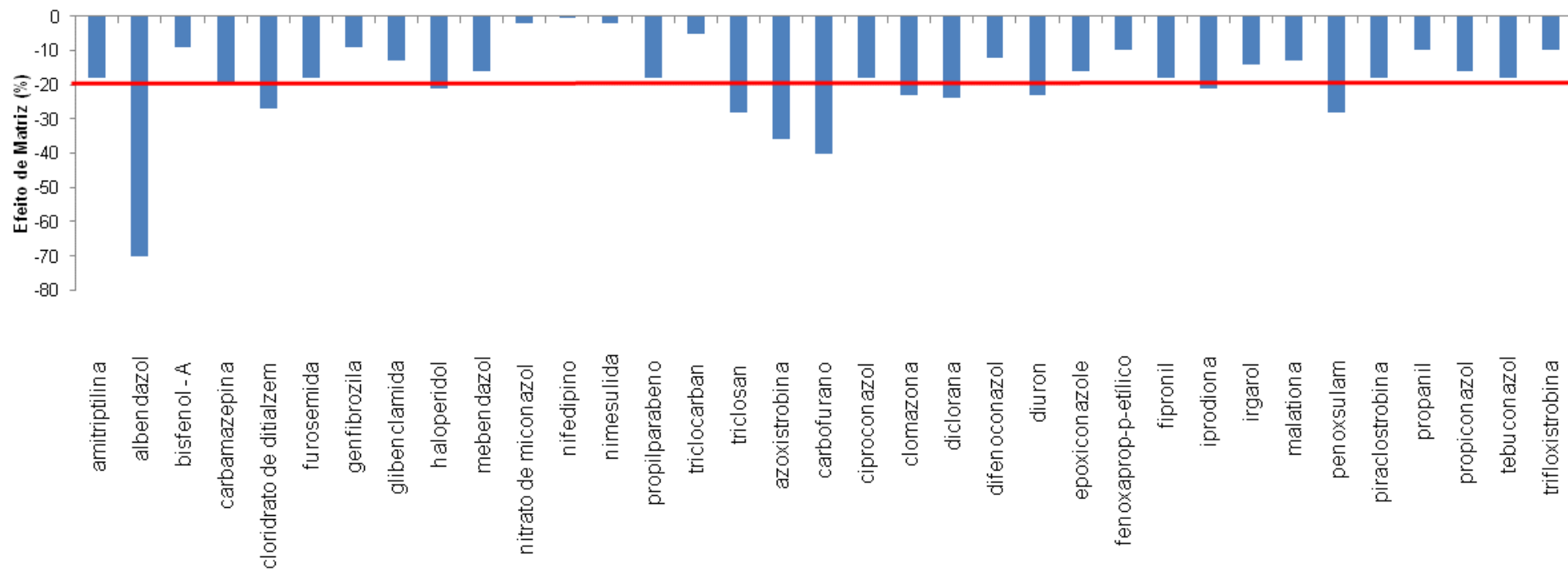
A precisão do método foi avaliada em termos de repetibilidade e precisão intermediária, sendo expressada por RSD. O método demonstrou boa precisão uma vez que os valores de RSD ficaram entre 1 e 16% para a repetibilidade e entre 3 e 17% para a precisão intermediária.

As recuperações ficaram entre 70 e 122%, seguindo as recomendações dos guias de validação (ANVISA, 2003; INMETRO, 2011). Portanto, os resultados obtidos para a repetibilidade e a precisão intermediária são adequados para as determinações analíticas em estudo.

6.7.1.4. Efeito matriz

Foi avaliado conforme descrito pela DLLME-SFO (item 5.4.1.4). Albendazol, cloridrato de ditalzem, triclosan, carbofurano, azoxistrobina, clomazona, diclorana, diuron e penoxsulam mostraram supressão de sinal durante a ionização, os outros analitos não apresentaram efeito de matriz.

Figura 24 - Efeito matriz (água potável) para os analitos em estudo, calculado pela inclinação das curvas analíticas preparadas no solvente e no extrato da matriz.



6.7.1.5. Aplicabilidade

Para avaliar a aplicabilidade do método, foi coletada amostra de água do Arroio Vieira (pH 6,6; turbidez 12 NTU), no mês de abril de 2016. A quantificação foi realizada empregando a quantificação por adição de padrão, com mínimo 5 níveis de concentração, para compensar qualquer efeito de matriz. Carbofurano-d3 e diuron-d6 foram adicionados nas amostras como padrões de recuperação para avaliar a eficiência de extração durante o preparo das amostras.

Foram detectados em concentrações abaixo do limite de quantificação, os compostos fipronil, propilparabeno e azoxistrobina.

6.8. Comparação da IL-DLLME proposta com outros métodos empregados para extração de agrotóxicos e PPCPs de amostras de água com determinação por LC-MS/MS

Na Tabela 31, o método proposto é comparado com outros publicados na literatura que fizeram uso da IL-DLLME para a extração de compostos orgânicos em amostras de água. As vantagens do método descrito neste trabalho sobre os outros incluem menor tempo de extração e o menor gasto energético. Além disso, o método mostrou precisão e exatidão semelhante aos que tem sido proposto em outros estudos. Cabe salientar que todos os outros métodos referidos na literatura aplicam a IL-DLLME para compostos da mesma classe química, sendo que este método nunca foi aplicado para a análise simultânea de agrotóxicos e PPCPs em amostras de água.

Tabela 31 - Comparação da IL-DLLME proposta com outros trabalhos empregados para extração de agrotóxicos e PPCPs em amostras de água

Técnica de extração	Analitos	Volume de amostra	Solvente extrator (volume)	Tempo de extração	Exatidão (%)	Precisão (%)	Faixa de LOQ ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Referências
IL-TC-DLLME	2 agrotóxicos	10 mL água da chuva, água subterrânea e água de rio	[C ₆ MIM][PF ₆] 50 μL	Aquecimento a 80 °C por 30 minutos	88 – 103	< 3	0,2 – 0,3	(ZHOU <i>et al.</i> , 2008)
IL-TC-DLLME	1 agrotóxico e 3 metabolitos	10 mL de amostra de água superficial	C ₆ MIM][PF ₆] 50 μL	Aquecimento a 75 °C por 30 minutos	97 – 106	<7	0,2 – 0,4	(BAI <i>et al.</i> , 2009)
IL-DLLME	16 HPAs	10 mL de água do rio, água engarrafada e água da chuva	[C ₈ MIM][PF ₆] 50 μL		90 – 103	<6	0,0001 – 0,006	(PENA <i>et al.</i> , 2009)
IL-USA-DLLME	4 Filtros solares	10 mL água da piscina, torneira e rio	([HMIM][FAP]) 20 μL	17 min tempo total da extração 7 min Utilizou banho de ultrassom e metanol	71 - 118	< 6,3	0,6 – 15	(Zhang e Lee, 2012)
IL-TC-DLLME	3 agrotóxicos	10 mL água da chuva e subterrânea	[C ₈ MIM][PF ₆] 55 μL	50 min tempo total da extração 30 minutos sobre aquecimento a 90 °C	83 - 118	<11	0,0015 – 2,64	(Zhou, Q. e Gao, Y., 2014)
IL-DLLME	35 agrotóxicos e PPCPs	10 mL amostra superficial pH 4	[C ₆ MIM][PF ₆] 100 μL	12 min tempo total da extração	70 – 120	≤18	0,5 – 2,5	Metodo proposto

6.9. Comparação entre os métodos da DLLME-SFO e IL- DLLME

Na Tabela 32, relaciona-se as principais diferenças dos métodos desenvolvidos utilizando DLLME-SFO e IL-DLLME.

Com relação aos LOD e LOQ, a DLLME- SFO e IL-DLLME apresentaram limites semelhantes, entretanto a DLLME-SFO apresentou limites mais baixos para alguns analitos. Quanto aos percentuais de recuperação, a IL-DLLME apresentou melhores resultados com recuperações variando de 70 a 120% em comparação a DLLME-SFO, cujos resultados variaram de 63 a 160%.

Os valores de RSD variaram entre 0,5 e 26% para o método da DLLME-SFO e entre 1 e 18% para o método da IL-DLLME. Os melhores resultados obtidos para a IL-DLLME podem ser explicados devido ao 1-dodecanol não apresentar um bom comportamento cromatográfico, mesmo após a diluição em metanol ocasionando variações entre as injeções da amostra e resultando em valores de RSD mais altos. Cabe resaltar que a IL-DLLME complementa a DLLME-SFO, visto que consegue abranger um maior número de analitos.

Tabela 32 - Principais diferenças entre os métodos

Parâmetros	DLLME - SFO	IL - DLLME
LOQ ($\mu\text{g L}^{-1}$)	0,25 – 2,5	0,5 – 2,5
LOD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	0,08 – 0,8	0,1 – 0,8
Recuperação (%)	63 - 160	70 - 120
RSD (%)	0,5 - 26	1 - 18
Efeito matriz	- 50 a 20	- 70 a – 0,2
Número de analitos	26	35

6.10. Comparação das técnicas propostas com o método de referência para extração de analitos orgânicos de amostra de água

A Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (US-EPA) sugere a SPE como técnica de referência para extração de agrotóxicos e PPCPs em amostras de água. A SPE é uma técnica de separação líquido-sólido, baseada nos mecanismos de separação da cromatografia líquida clássica, sendo esta a

técnica mais utilizada para extração, pré-concentração e limpeza na extração de compostos orgânicos em amostras ambientais. A SPE ganhou mais popularidade do que a LLE devido ao menor uso de solvente orgânico, menor tempo, sendo que a principal vantagem dessa técnica é a extração de analitos com polaridades totalmente diferentes (LANÇAS, FERNANDO M., 2009; ANDRADE-EIROA *et al.*, 2015).

Conforme o que vem sendo publicado na literatura utilizando a SPE, cabe salientar que, empregando DLLME-SFO, IL-DLLME e LC-MS/MS foi possível à determinação de agrotóxicos e PPCPs em amostras de água atingindo a mesma eficiência e precisão de extração quando comparado a SPE.

No trabalho de Caldas e colaboradores (2013) 18 PPCPs e 33 agrotóxicos foram extraídos simultaneamente empregando SPE em água superficial e tratada, e as amostras foram divididas em duas alíquotas uma com pH ajustado a 3 e outra sem ajuste do pH. O método proposto empregando SPE e LC-MS/MS atingiu R (%) entre 40 e 129%. Analitos iguais aos estudados neste trabalho também foram extraídos (carbamazepina, diclofenaco sódico, genfibrozila, furosemida, glibenclamida, nimesulida, propilparabeno, triclosan, triclocarban, 2,4 -D, atrazina, azoxistrobina, carbofurano, ciproconazol, clomazona, difeconazol, duron, epoxiconazol, fipronil, iprodiona, irgarol, malationa, penoxulam, propanil, propiconazol, tebuconazol e trifloxistrobina) e os resultados obtidos ficaram entre 61 e 124%; valores estes semelhantes ao obtidos empregando a DLLME-SFO e a IL-DLLME (CALDAS *et al.*, 2013).

Também no que se refere à determinação de compostos orgânicos em amostras de água, Hurtado-Sánchez *et al* (2013) utilizaram SPE com determinação por LC-MS/MS para extração de 37 agrotóxicos em águas de superfície e obtiveram recuperações entre 92 e 130% para diuron e atrazina (HURTADO-SÁNCHEZ *et al.*, 2013). Valores semelhantes foram obtidos para esses compostos quando se utilizou a DLLME-SFO e a IL-DLLME.

Em outro estudo, Shi e colaboradores (2014) na determinação de agrotóxicos carbamatos em amostras de água ambiental utilizando SPE,

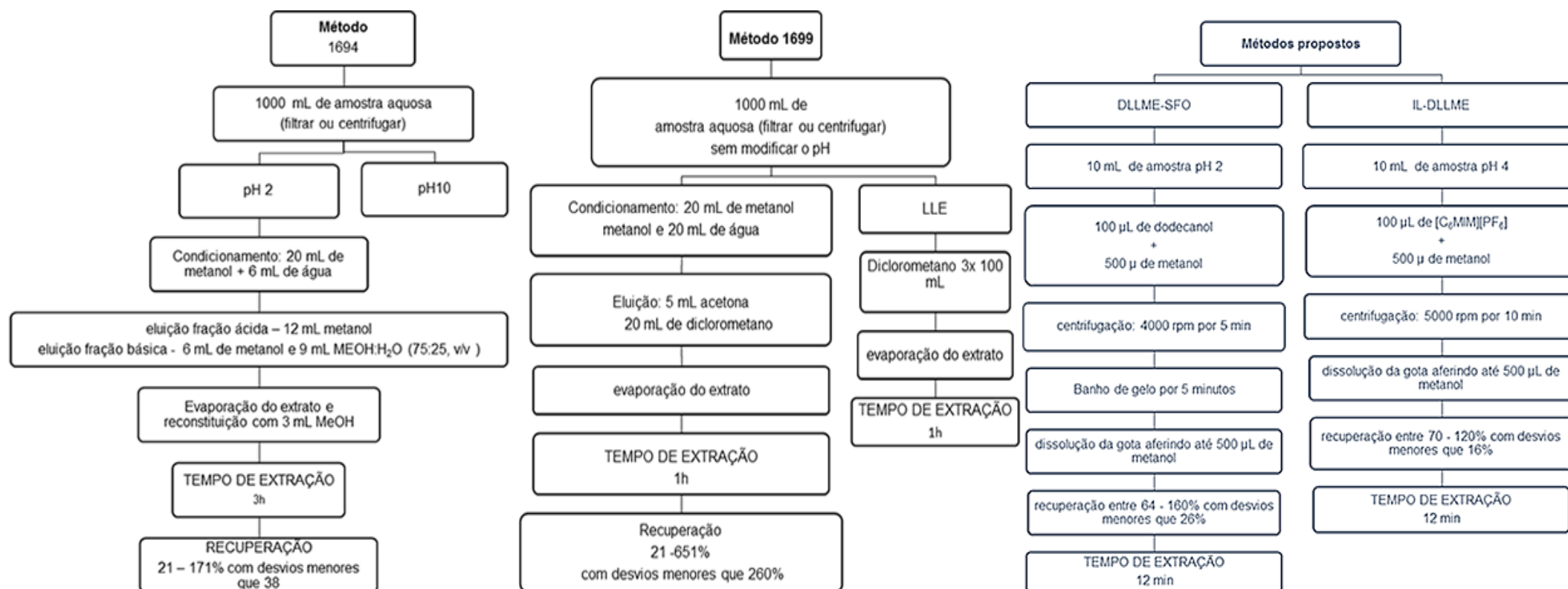
obtiveram recuperações entre 81 e 111% (SHI *et al.*, 2014). No estudo de Anumol e colaboradores (2015), o uso da técnica de SPE em conjunto com a determinação por LC-MS/MS foi proposta para determinação de 34 compostos orgânicos incluindo fármacos, produtos de cuidados pessoais, agrotóxicos, hormônios e contaminantes industriais. Carbamazepina, diclofenaco sódico, cloridrato de ditalzem, genfibrozila, triclocarban, triclosan, bisfenol - A e atrazina foram extraídos com recuperação (%) entre 73 e 128%. A faixa similar ao que foi encontrado nesse trabalho, estes mesmos analitos apresentaram recuperação (%) entre 70 e 160 (%) (ANUMOL *et al.*, 2015).

O método oficial 1694 para extração de PPCPs proposto pela US-EPA recomenda a utilização de cartuchos SPE com adsorvente polimérico Oasis HLB os quais são condicionados com 20 mL de metanol e 6 mL de água e também indica a separação da amostra em duas alíquotas, uma com pH de 2 acidificada com HCl (amostra ácida) e outra com pH de 10 com NH₄OH (amostra básica). Depois, 1 L de amostra é percolado a 5-10 mL min⁻¹ resultando num tempo de percolação da amostra de 100-200 min. Para a fração ácida a eluição é realizada com 12 mL de metanol, e se os analitos triclosan e triclocarban fizerem parte do estudo, 6 mL de acetona:metanol (1:1, v/v) também são percolados no cartucho para eluição. Para a eluição da fração básica, 6 mL de metanol seguidos de 9 mL de uma solução 2% de ácido fórmico em metanol:água (75:25, v/v). Depois, as frações são secas separadamente com auxílio de nitrogênio e redissolvidas com 4 mL metanol utilizando 0,1% ácido fórmico. Uma alíquota de 1 mL de cada extrato é colocada em um frasco do LC-MS/MS e estas são injetadas separadamente (ENGLERT, 2007a)

No que diz respeito aos agrotóxicos, o método oficial para a extração é o método 1699 também proposto pela EPA. No qual indica a SPE em discos ou a LLE em funil de separação. Para a SPE, os discos são condicionados com 20 mL de metanol e 20 mL de água. A eluição é realizada com 4-5 mL de acetona, seguido de 2 replicatas com 20 mL de diclorometano. Para a LLE, são empregadas 3 replicatas de 100 mL de diclorometano (ENGLERT, 2007b).

Fazendo uma comparação entre os métodos de referência e os propostos neste trabalho (Figura 25), verifica-se que é viável com a aplicação da DDLME-SFO e IL-DLLME a extração multiresíduo de analitos semelhantes aos propostos pelos métodos de referência com as vantagens de utilizar um menor volume de solvente, solventes menos tóxicos, menor tempo de extração, menor custo e menor número de etapas, mantendo a eficiência de extração dentro dos valores aceitáveis.

Figura 25 - Comparação dos métodos propostos com o método de referência para extração de analitos orgânicos de amostra de água



7. CONCLUSÕES

Os métodos demonstraram exatidão (70-120%) e precisão (RSD<20%) aceitáveis e LOQs na faixa de $\mu\text{g L}^{-1}$, adequados aos LMRs estipulados nas legislações vigentes. Entretanto, o estudo do efeito matriz indicou a necessidade da correção do mesmo, que neste caso foi realizado pelo método de adição padrão.

A DLLME-SFO e a IL-DLLME apresentadas nesse estudo, quando comparadas a SPE (método oficial para extração de agrotóxicos e PPCPs em amostras de água), mostraram-se eficientes e menos poluentes, uma vez que utilizam poucos volumes de solventes orgânicos verdes, pouca instrumentação e rapidez na extração. Essas técnicas surgem como uma alternativa a SPE.

O trabalho desenvolvido apresenta caráter inovador, uma vez que não foram relatados na literatura trabalhos que estudassem as técnicas de DLLME-SFO e IL-DLLME para extração simultânea de agrotóxicos e PPCPs em nenhum tipo de matriz.

Entretanto a técnica que se mostrou mais promissora foi a IL-DLLME uma vez que extraiu um número maior de PPCPs e agrotóxicos. Técnicas que contemplam uma ampla faixa de PPCPs conhecidos como contaminantes emergentes são de extrema importância, uma vez que ainda existem poucos estudos sobre os impactos causados. O método desenvolvido pode ser utilizado para o monitoramento de PPCPs em amostras de águas gerando dados que possam contribuir para que as agências reguladoras desenvolvam uma legislação ambiental específica estes compostos.

Cabe salientar, que a hipótese do trabalho foi comprovada tendo em vista que as técnicas de extração DLLME-SFO e IL-DLLME conseguiram extrair simultaneamente agrotóxicos e PPCPs.

Deste modo, conclui-se que os métodos mostraram-se adequados e inovadores para determinação simultânea de agrotóxicos e PPCPs em amostras de água. Além disso, os métodos foram aplicados com sucesso na determinação dos analitos em estudo em amostras de água de superfície. Cabe resaltar, que trabalhos com esse propósito contribuem com o avanço da química analítica.

8. TRATAMENTO DOS RESÍDUOS GERADOS

Os resíduos gerados no desenvolvimento deste trabalho foram coletados, separados em frascos devidamente rotulados de acordo com as normas definidas pela comissão de resíduos da Escola de Química e Alimentos, e armazenados para posterior recolhimento e tratamento por empresa contratada pela Universidade. Além disso, estão sendo desenvolvidos e otimizados, no LACOM, trabalhos com o objetivo de degradação dos resíduos de agrotóxicos, fármacos e PCPs gerados no laboratório.

9. SUGESTÃO PARA TRABALHOS FUTUROS

Aplicar a DLLME-SFO e a IL-DLLME para extração desses analitos em outras matrizes ambientais e realizar um monitoramento das águas superficiais da região Sul aplicando essas técnicas de extração;

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDELHAMID, H. N. Ionic liquids for mass spectrometry: matrices, separation and microextraction. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, 2015. ISSN 0165-9936.

AHMAD, W. et al. Recent advances in dispersive liquid-liquid microextraction for pesticide analysis. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 72, p. 181-192, 2015. ISSN 0165-9936.

AL-SAIDI, H. M.; EMARA, A. A. A. The recent developments in dispersive liquid-liquid microextraction for preconcentration and determination of inorganic analytes. **Journal of Saudi Chemical Society**, v. 18, p. 745-761, 2014.

ALBERO, B. et al. Ultrasound-assisted extraction of emerging contaminants from environmental samples. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 71, p. 110-118, 2015. ISSN 0165-9936.

AMDE, M.; LIU, J.-F.; PANG, L. Environmental application, fate, effects, and concerns of ionic liquids: a review. **Environmental Science & Technology**, v. 49, n. 21, p. 12611-12627, 2015. ISSN 0013-936.

ANDRADE-EIROA, A. et al. Solid phase extraction of organic compounds: a critical review. part i. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, 2015. ISSN 0165-9936.

ANDREU, V.; PICÓ, Y. Determination of pesticides and their degradation products in soil: critical review and comparison of methods. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 23, n. 10, p. 772-789, 2004. ISSN 0165-9936.

ANDRUCH, V. et al. Application of ultrasonic irradiation and vortex agitation in solvent microextraction. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 49, p. 1-19, 2013. ISSN 0165-9936.

ANUMOL, T.; SNYDER, S. A. Rapid analysis of trace organic compounds in water by automated online solid-phase extraction coupled to liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Talanta**, v. 132, p. 77-86, 2015. ISSN 0039-9140.

ANVISA, B. Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos. **Resolução RE nº 899, de 29 de maio de 2003.**, 2003.

ARAIN, M. S. et al. Temperature controlled ionic liquid-based dispersive microextraction using two ligands, for determination of aluminium in scalp hair samples of Alzheimer's patients: A multivariate study. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 137, p. 877-885, 2015. ISSN 1386-1425.

ARMENTA, S.; GARRIGUES, S.; DE LA GUARDIA, M. The role of green extraction techniques in green analytical chemistry. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, 2015. ISSN 0165-9936.

ASENSIO-RAMOS, M. et al. Ionic liquid-dispersive liquid–liquid microextraction for the simultaneous determination of pesticides and metabolites in soils using high-performance liquid chromatography and fluorescence detection. **Journal of Chromatography A**, v. 1218, n. 30, p. 4808-4816, 2011. ISSN 0021-9673.

BAGHDADI, M.; SHEMIRANI, F. Cold-induced aggregation microextraction: a novel sample preparation technique based on ionic liquids. **Analytica Chimica Acta**, v. 613, n. 1, p. 56-63, 2008. ISSN 0003-2670.

BAI, H. et al. Enrichment and sensitive determination of dichlorodiphenyltrichloroethane and its metabolites with temperature controlled ionic liquid dispersive liquid phase microextraction prior to high performance liquid phase chromatography. **Analytica Chimica Acta**, v. 651, n. 1, p. 64-68, 2009. ISSN 0003-2670.

BARBOSA, S. C. DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS BASEADOS NA DLLME COM DEMULSIFICANTE ÁGUA PARA DETERMINAÇÃO MULTIRRESÍDUO DE AGROTÓXICOS E FÁRMACOS E PRODUTOS DE CUIDA PESSOAL EM AMOSTRAS DE ÁGUA. **2015.f.84. Tese (Doutorado em Química) - FURG, Rio Grande, RS, 2015.**

BASHIRY, M. et al. Application and optimization of microwave-assisted extraction and dispersive liquid–liquid microextraction followed by high-performance liquid chromatography for sensitive determination of polyamines in turkey breast meat samples. **Food Chemistry**, v. 190, p. 1168-1173, 2016. ISSN 0308-8146.

BEHBAHANI, M. et al. Modified nanoporous carbon as a novel sorbent before solvent-based de-emulsification dispersive liquid–liquid microextraction for ultra-trace detection of cadmium by flame atomic absorption spectrophotometry. **Measurement**, v. 51, p. 174-181, 2014. ISSN 0263-2241.

BELDEAN-GALEA, M. S. et al. Determination of four acidic nonsteroidal anti-inflammatory drugs in wastewater samples by dispersive liquid–liquid microextraction based on solidification of floating organic droplet and high-performance liquid chromatography. **Journal of Separation Science**, v. 38, n. 4, p. 641-648, 2015. ISSN 1615-9314.

BENEDÉ, J. L. et al. Determination of UV filters in both soluble and particulate fractions of seawaters by dispersive liquid–liquid microextraction followed by gas chromatography–mass spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 812, p. 50-58, 2014. ISSN 0003-2670.

BORTOLOZO, F. et al. Peatland as a natural sink for pesticides from no-till systems in subtropical climate. **Agricultural Water Management**, v. 163, p. 19-27, 2016. ISSN 0378-3774.

BOYACI, E. et al. Sample preparation with solid phase microextraction and exhaustive extraction approaches: Comparison for challenging cases. **Analytica Chimica Acta**, v. 873, p. 14-30, 2015. ISSN 0003-2670.

BRANDÃO, C. et al. Guia nacional de coleta e preservação de amostras: água, sedimento, comunidades aquáticas e efluentes líquidos. **São Paulo: CETESB**, 2011.

BRASIL. Portaria nº 2914 de 12 de dezembro de 2011. Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. 2011.

BRITTO, F. B. et al. Herbicidas no alto Rio Poxim, Sergipe e os riscos de contaminação dos recursos hídricos. **Revista Ciência Agronômica**, v. 43, n. 2, p. 390-398, 2012. ISSN 0045-6888.

BU, Q. et al. Pharmaceuticals and personal care products in the aquatic environment in China: a review. **Journal of Hazardous Materials**, v. 262, p. 189-211, 2013. ISSN 0304-3894.

CABRERA, L. D. C.; COSTA, F. P.; PRIMEL, E. G. Estimativa de risco de contaminação das águas por pesticidas na região sul do estado do RS. **Química Nova**, v. 31, p. 1982-1986, 2008. ISSN 0100-4042.

CALDAS, S. S. OTIMIZAÇÃO E VALIDAÇÃO DE MÉTODOS EMPREGANDO DLLME, SPE, HPLC-DAD E LC-ESI-MS/MS PARA DETERMINAÇÃO DE AGROTÓXICOS EM ÁGUA SUBTERRÂNEA. **2009.p.102.Dissertação (mestrado em Química)- FURG, Rio Grande, RS**, 2009.

CALDAS, S. S. et al. Determination of pharmaceuticals, personal care products, and pesticides in surface and treated waters: method development and survey. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 20, n. 8, p. 5855-5863, 2013. ISSN 0944-1344.

CALDAS, S. S. et al. Principais técnicas de preparo de amostra para a determinação de resíduos de agrotóxicos em água por cromatografia líquida com detecção por arranjo de diodos e por espectrometria de massas. **Química Nova**, v. 34, n. 9, p. 1604-1617, 2011.

CALDAS, S. S. et al. Multi-residue method for determination of 58 pesticides, pharmaceuticals and personal care products in water using solvent demulsification dispersive liquid-liquid microextraction combined with liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Talanta**, v. 146, p. 676-688, 2016. ISSN 0039-9140.

CELANO, R. et al. Ultra-preconcentration and determination of selected pharmaceutical and personal care products in different water matrices by solid-phase extraction combined with dispersive liquid–liquid microextraction prior to ultra high pressure liquid chromatography tandem mass spectrometry analysis. **Journal of Chromatography A**, v. 1355, p. 26-35, 2014. ISSN 0021-9673.

CERQUEIRA, M. B. et al. Evaluation of the QuEChERS method for the extraction of pharmaceuticals and personal care products from drinking-water treatment sludge with determination by UPLC-ESI-MS/MS. **Chemosphere**, v. 107, p. 74-82, 2014. ISSN 0045-6535.

CETESB. Disponível em: < <http://sistemasinter.cetesb.sp.gov.br/produtos/>>. Acesso em: 20 de maio de 2014.

CHANG, C.-C.; HUANG, S.-D. Determination of the steroid hormone levels in water samples by dispersive liquid–liquid microextraction with solidification of a floating organic drop followed by high-performance liquid chromatography. **Analytica Chimica Acta**, v. 662, n. 1, p. 39-43, 2010. ISSN 0003-2670.

CHEN, F.; GONG, Z.; KELLY, B. C. Rapid analysis of pharmaceuticals and personal care products in fish plasma micro-aliquots using liquid chromatography tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1383, p. 104-111, 2015. ISSN 0021-9673.

CHENG, J. et al. Development of a novel ultrasound-assisted surfactant-enhanced emulsification microextraction method and its application to the analysis of eleven polycyclic aromatic hydrocarbons at trace levels in water. **Journal of Chromatography A**, v. 1218, n. 18, p. 2476-2482, 2011a. ISSN 0021-9673.

CHENG, J. et al. Dispersive liquid-liquid microextraction based on solidification of floating organic droplet method for the determination of diethofencarb and pyrimethanil in aqueous samples. **Microchimica Acta**, v. 172, n. 1-2, p. 51-55, 2011b. ISSN 0026-3672.

CHIARADIA, M. C.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. O estado da arte da cromatografia associada à espectrometria de massas acoplada à espectrometria de massas na análise de compostos tóxicos em alimentos. **Química nova**, v. 31, n. 3, p. 623-636, 2008.

COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. Fundamentos de cromatografia. In: UNICAMP, E. (Ed.). **Fundamentos de cromatografia**: Unicamp, 2006.

DAI, L. et al. Dispersive liquid–liquid microextraction based on the solidification of floating organic droplet for the determination of polychlorinated biphenyls in aqueous samples. **Analytica Chimica Acta**, v. 674, n. 2, p. 201-205, 2010. ISSN 0003-2670.

DEMOLINER, A. et al. Development and validation of a method using SPE and LC-ESI-MS-MS for the determination of multiple classes of pesticides and metabolites in water samples. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 21, n. 8, p. 1424-1433, 2010. ISSN 0103-5053.

DIAO, C.-P.; WEI, C.-H. Rapid determination of anilines in water samples by dispersive liquid-liquid microextraction based on solidification of floating organic drop prior to gas chromatography-mass spectrometry. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 403, n. 3, p. 877-884, 2012. ISSN 1618-2642.

DOCHERTY, K. M.; KULPA JR, C. F. Toxicity and antimicrobial activity of imidazolium and pyridinium ionic liquids. **Green Chemistry**, v. 7, n. 4, p. 185-189, 2005.

DRUGBANK. Disponível em: < <http://www.drugbank.ca/> >. Acesso em: 15 Abr. 2014.

ECONOMOU, A. et al. Determination of multi-class pesticides in wines by solid-phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1216, n. 31, p. 5856-5867, 2009. ISSN 0021-9673.

ENGLERT, B. Method 1694: Pharmaceuticals and Personal Care Products in Water, Soil, Sediment, and Biosolids by HPLC/MS/MS. **US Environmental Protection Agency (EPA)**, v. TECHNOLOGY, O. O. S. A.: 1-72 p. 2007a, 2007a.

_____. Method 1699: Pesticides in Water, Soil, Sediment, Biosolids, and Tissue by HRGC/HRMS. **US Environmental Protection Agency (EPA)**:, p. 1-96 2007b.

ESPINO, M. et al. Natural designer solvents for greening analytical chemistry. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 76, p. 126-136, 2016. ISSN 0165-9936.

EU. 98/83/EC of 3 November 1998 on the quality of water intended for human consumption. **Off. J. Eur. Comm**, v. 5, p. L338, 1998.

FAN, Y.; LIU, S.; XIE, Q. Rapid determination of phthalate esters in alcoholic beverages by conventional ionic liquid dispersive liquid-liquid microextraction coupled with high performance liquid chromatography. **Talanta**, v. 119, p. 291-298, 2014. ISSN 0039-9140.

FARAJZADEH, M. A. et al. Dispersive liquid-liquid microextraction for the analysis of three organophosphorus pesticides in real samples by high performance liquid chromatography-ultraviolet detection and its optimization by experimental design. **Microchimica Acta**, v. 172, n. 3-4, p. 465-470, 2011. ISSN 0026-3672.

FARAJZADEH, M. A.; FERIDUNI, B.; MOGADDAM, M. R. A. Development of a new extraction method based on counter current salting-out homogenous liquid–liquid extraction followed by dispersive liquid–liquid microextraction: Application for the extraction and preconcentration of widely used pesticides from fruit juices. **Talanta**, v. 146, p. 772-779, 2016. ISSN 0039-9140.

FARHADI, K.; MATIN, A. A.; HASHEMI, P. LC determination of trace amounts of phenoxyacetic acid herbicides in water after dispersive liquid–liquid microextraction. **Chromatographia**, v. 69, n. 1-2, p. 45-49, 2009. ISSN 0009-5893.

FERNÁNDEZ, P. et al. Optimization of ultrasound assisted dispersive liquid–liquid microextraction of sixantidepressants in human plasma using experimental design. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, 2016. ISSN 0731-7085.

FOULET, A. et al. Understanding the physical properties, toxicities and antimicrobial activities of choline-amino acid-based salts: Low-toxic variants of ionic liquids. **Journal of Molecular Liquids**, v. 221, p. 133-138, 2016. ISSN 0167-7322.

FUMES, B. H. et al. Recent advances and future trends in new materials for sample preparation. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 71, p. 9-25, 2015. ISSN 0165-9936.

GALIŃSKI, M.; LEWANDOWSKI, A.; STĘPNIAK, I. Ionic liquids as electrolytes. **Electrochimica Acta**, v. 51, n. 26, p. 5567-5580, 2006. ISSN 0013-4686.

GAO, Y. et al. Temperature-controlled ionic liquid dispersive liquid-phase microextraction combined with HPLC with ultraviolet detector for the determination of fungicides. **Journal of Separation Science**, v. 35, n. 24, p. 3569-3574, 2012. ISSN 1615-9314.

GE, D.; LEE, H. K. Ionic liquid based dispersive liquid–liquid microextraction coupled with micro-solid phase extraction of antidepressant drugs from environmental water samples. **Journal of Chromatography A**, v. 1317, p. 217-222, 2013. ISSN 0021-9673.

GHAMBARIAN, M.; YAMINI, Y.; ESRAFILI, A. Liquid-phase microextraction based on solidified floating drops of organic solvents. **Microchimica Acta**, v. 180, n. 7-8, p. 519-535, 2013. ISSN 0026-3672.

GONCALVES, D. A.; JONES, B. T.; DONATI, G. L. The reversed-axis method to estimate precision in standard additions analysis. **Microchemical Journal**, v. 124, p. 155-158, 2016. ISSN 0026-265X.

GONG, A.; ZHU, X. Dispersive solvent-free ultrasound-assisted ionic liquid dispersive liquid–liquid microextraction coupled with HPLC for determination of ulipristal acetate. **Talanta**, v. 131, p. 603-608, 2015. ISSN 0039-9140.

GONZÁLEZ, A.; AVIVAR, J.; CERDÀ, V. Estrogens determination in wastewater samples by automatic in-syringe dispersive liquid–liquid microextraction prior silylation and gas chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 1413, p. 1-8, 2015. ISSN 0021-9673.

GROS, M.; RODRÍGUEZ-MOZAZ, S.; BARCELÓ, D. Fast and comprehensive multi-residue analysis of a broad range of human and veterinary pharmaceuticals and some of their metabolites in surface and treated waters by ultra-high-performance liquid chromatography coupled to quadrupole-linear ion trap tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1248, p. 104-121, 2012. ISSN 0021-9673.

GURE, A. et al. Vortex-assisted ionic liquid dispersive liquid–liquid microextraction for the determination of sulfonylurea herbicides in wine samples by capillary high-performance liquid chromatography. **Food Chemistry**, v. 170, p. 348-353, 2015. ISSN 0308-8146.

HASHEMI, B.; SHAMSIPUR, M.; BARATI, A. Dispersive Liquid-Liquid Microextraction Based on Solidification of Floating Organic Drop with Central Composite Design for the Determination of Nitrophenols Using High-Performance Liquid Chromatography. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 26, n. 10, p. 2046-2053, 2015. ISSN 0103-5053.

HE, L. et al. Ionic liquid-based dispersive liquid–liquid microextraction followed high-performance liquid chromatography for the determination of organophosphorus pesticides in water sample. **Analytica Chimica Acta**, v. 655, n. 1, p. 52-59, 2009. ISSN 0003-2670.

HENDRIKS, G.; UGES, D.; FRANKE, J. Reconsideration of sample pH adjustment in bioanalytical liquid–liquid extraction of ionisable compounds. **Journal of Chromatography B**, v. 853, n. 1, p. 234-241, 2007. ISSN 1570-0232.

HERRERA-HERRERA, A. V. et al. Dispersive liquid–liquid microextraction combined with ultra-high performance liquid chromatography for the simultaneous determination of 25 sulfonamide and quinolone antibiotics in water samples. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 75, p. 130-137, 2013. ISSN 0731-7085.

HERRERO-LATORRE, C. et al. Magnetic solid-phase extraction using carbon nanotubes as sorbents: A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 892, p. 10-26, 2015. ISSN 0003-2670.

HOU, F.; DENG, T.; JIANG, X. Dispersive liquid-liquid microextraction of phenolic compounds using solidified floating organic droplets, and their determination by HPLC. **Microchimica Acta**, v. 180, n. 5-6, p. 341-346, 2013. ISSN 0026-3672.

HURTADO-SÁNCHEZ, M. et al. Rapid and sensitive on-line solid phase extraction-ultra high performance liquid chromatography–electrospray-tandem mass spectrometry analysis of pesticides in surface waters. **Journal of Chromatography A**, v. 1305, p. 193-202, 2013. ISSN 0021-9673.

IBGE. Indicadores de Desenvolvimento Sustentável. Disponível em: < ftp://geofp.ibge.gov.br/documentos/recursos_naturais/indicadores_desenvolvimento_sustentavel/2012/ids2012.pdf >. Acesso em: 24 set. 2015., 2012.

INMETRO. **Orientação sobre Validação de métodos analíticos Disponível em:** < http://www.inmetro.gov.br/Sidoq/Arquivos/CGCRE/DOQ/DOQ-CGCRE-8_04.pdf >. Acesso em: 28 set. 2015. DOQ-CGCRE-008-Revisão 03–Fev. 2011

JAIN, R.; SINGH, R. Applications of dispersive liquid–liquid micro-extraction in forensic toxicology. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 75, p. 227-237, 2016. ISSN 0165-9936.

JALBANI, N.; SOYLAK, M. Ligandless ultrasonic-assisted and ionic liquid-based dispersive liquid–liquid microextraction of copper, nickel and lead in different food samples. **Food Chemistry**, v. 167, p. 433-437, 2015. ISSN 0308-8146.

JI, Y. et al. Rapid analysis of non-steroidal anti-inflammatory drugs in tap water and drinks by ionic liquid dispersive liquid–liquid microextraction coupled to ultra-high performance supercritical fluid chromatography. **Analytical Methods**, v. 6, n. 18, p. 7294-7304, 2014.

JIA, S. et al. Combined application of dispersive liquid–liquid microextraction based on the solidification of floating organic droplets and charged aerosol detection for the simple and sensitive quantification of macrolide antibiotics in human urine. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 86, p. 204-213, 2013. ISSN 0731-7085.

JOUYBAN, A. et al. Determination of five antiarrhythmic drugs in human plasma by dispersive liquid–liquid microextraction and high-performance liquid chromatography. **Talanta**, v. 134, p. 681-689, 2015. ISSN 0039-9140.

KAMAREI, F.; EBRAHIMZADEH, H.; ASGHARINEZHAD, A. A. Optimization of simultaneous derivatization and extraction of aliphatic amines in water samples with dispersive liquid–liquid microextraction followed by HPLC. **Journal of Separation Science**, v. 34, n. 19, p. 2719-2725, 2011. ISSN 1615-9314.

KAMAREI, F.; EBRAHIMZADEH, H.; YAMINI, Y. Optimization of temperature-controlled ionic liquid dispersive liquid phase microextraction combined with high performance liquid chromatography for analysis of chlorobenzenes in water samples. **Talanta**, v. 83, n. 1, p. 36-41, 2010. ISSN 0039-9140.

_____. Optimization of ultrasound-assisted emulsification microextraction with solidification of floating organic droplet followed by high performance liquid chromatography for the analysis of phthalate esters in cosmetic and environmental water samples. **Microchemical Journal**, v. 99, n. 1, p. 26-33, 2011. ISSN 0026-265X.

KOCÚROVÁ, L. et al. Recent advances in dispersive liquid–liquid microextraction using organic solvents lighter than water. A review. **Microchemical Journal**, v. 102, p. 11-17, 2012. ISSN 0026-265X.

KOKOSA, J. M. Advances in solvent-microextraction techniques. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 43, p. 2-13, 2013. ISSN 0165-9936.

KOSTIĆ, N. et al. Stepwise optimization approach for improving LC-MS/MS analysis of zwitterionic antiepileptic drugs with implementation of experimental design. **Journal of Mass Spectrometry**, v. 48, n. 7, p. 875-884, 2013. ISSN 1096-9888.

KUMIRSKA, J. et al. Simultaneous determination of non-steroidal anti-inflammatory drugs and oestrogenic hormones in environmental solid samples. **Science of The Total Environment**, v. 508, p. 498-505, 2015. ISSN 0048-9697.

LANÇAS, F. M. A cromatografia líquida moderna e a espectrometria de massas: finalmente “compatíveis”. **Scientia Chromatographica**, v. 1, n. 2, p. 35-61, 2009.

LANÇAS, F. M. Cromatografia líquida moderna: HPLC/CLAE. **Campinas: Editora Átomo**, n. ISBN 978-85-7670-123-1, 2009.

LATTANZIO, V. M. et al. Validation of screening methods according to Regulation 519/2014/EU. Determination of deoxynivalenol in wheat by lateral flow immunoassay: A case study. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 76, p. 137-144, 2016. ISSN 0165-9936.

LEMOS, V. A.; OLIVEIRA, L. A. Ultrasound-assisted temperature-controlled ionic liquid microextraction for the preconcentration and determination of cadmium content in mussel samples. **Food Control**, v. 50, p. 901-906, 2015. ISSN 0956-7135.

LEONG, M.-I.; FUH, M.-R.; HUANG, S.-D. Beyond dispersive liquid–liquid microextraction. **Journal of Chromatography A**, v. 1335, p. 2-14, 2014. ISSN 0021-9673.

LEONG, M.-I.; HUANG, S.-D. Dispersive liquid–liquid microextraction method based on solidification of floating organic drop combined with gas chromatography with electron-capture or mass spectrometry detection. **Journal of Chromatography A**, v. 1211, n. 1, p. 8-12, 2008. ISSN 0021-9673.

_____. Dispersive liquid–liquid microextraction method based on solidification of floating organic drop for extraction of organochlorine pesticides in water samples. **Journal of Chromatography A**, v. 1216, n. 45, p. 7645-7650, 2009. ISSN 0021-9673.

LI, J. et al. Ion-pair dispersive liquid–liquid microextraction solidification of floating organic droplets method for the rapid and sensitive detection of phenolic acids in wine samples using liquid chromatography combined with a core–shell particle column. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 45, p. 73-79, 2016. ISSN 0889-1575.

LI, T. et al. Ionic liquids as solvents for in situ dispersive liquid–liquid microextraction of DNA. **Journal of Chromatography A**, v. 1272, p. 8-14, 2013. ISSN 0021-9673.

LIANG, P.; WANG, F.; WAN, Q. Ionic liquid-based ultrasound-assisted emulsification microextraction coupled with high performance liquid chromatography for the determination of four fungicides in environmental water samples. **Talanta**, v. 105, p. 57-62, 2013. ISSN 0039-9140.

LIMA, D. L. et al. Low cost methodology for estrogens monitoring in water samples using dispersive liquid–liquid microextraction and HPLC with fluorescence detection. **Talanta**, v. 115, p. 980-985, 2013. ISSN 0039-9140.

LIU, H. et al. Extraction and determination of polybrominated diphenyl ethers in water and urine samples using solidified floating organic drop microextraction along with high performance liquid chromatography. **Microchimica Acta**, v. 176, n. 3-4, p. 303-309, 2012. ISSN 0026-3672.

LIU, Y. et al. Simultaneous speciation of inorganic arsenic, selenium and tellurium in environmental water samples by dispersive liquid liquid microextraction combined with electrothermal vaporization inductively coupled plasma mass spectrometry. **Talanta**, v. 142, p. 213-220, 2015. ISSN 0039-9140.

LIU, Y. et al. Determination of four heterocyclic insecticides by ionic liquid dispersive liquid–liquid microextraction in water samples. **Journal of Chromatography A**, v. 1216, n. 6, p. 885-891, 2009. ISSN 0021-9673.

LÓPEZ, M. I.; CALLAO, M. P.; RUISÁNCHEZ, I. A tutorial on the validation of qualitative methods: From the univariate to the multivariate approach. **Analytica Chimica Acta**, v. 891, p. 62-72, 2015. ISSN 0003-2670.

MARTÍN, J. et al. Determination of hormones, a plasticizer, preservatives, perfluoroalkylated compounds, and a flame retardant in water samples by ultrasound-assisted dispersive liquid–liquid microextraction based on the solidification of a floating organic drop. **Talanta**, 2015. ISSN 0039-9140.

MARUBE, L. C. et al. Dispersive liquid-liquid microextraction with solidification of floating organic droplets for simultaneous extraction of pesticides, pharmaceuticals and personal care products. **Microchimica Acta**, v. 182, n. 9-10, p. 1765-1774, 2015. ISSN 0026-3672.

MASIÁ, A. et al. Assessment of two extraction methods to determine pesticides in soils, sediments and sludges. Application to the Túrria River Basin. **Journal of Chromatography A**, v. 1378, p. 19-31, 2015. ISSN 0021-9673.

MATUSZEWSKI, B.; CONSTANZER, M.; CHAVEZ-ENG, C. Strategies for the assessment of matrix effect in quantitative bioanalytical methods based on HPLC-MS/MS. **Analytical Chemistry**, v. 75, n. 13, p. 3019-3030, 2003. ISSN 0003-2700.

OCAÑA-GONZÁLEZ, J. A. et al. New developments in microextraction techniques in bioanalysis. A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 905, p. 8-23, 2016. ISSN 0003-2670.

OLIVEIRA, A. R. M. D. et al. Microextração em fase líquida (LPME): fundamentos da técnica e aplicações na análise de fármacos em fluidos biológicos. **Química Nova**, v. 31, n. 3, p. 637-644, 2008. ISSN 0100-4042.

PENA, M. T. et al. Development of an ionic liquid based dispersive liquid–liquid microextraction method for the analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in water samples. **Journal of Chromatography A**, v. 1216, n. 36, p. 6356-6364, 2009. ISSN 0021-9673.

PENG, G. et al. Dispersive liquid–liquid microextraction method based on solidification of floating organic droplet for the determination of thiamphenicol and florfenicol in environmental water samples. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 115, p. 229-233, 2015. ISSN 0147-6513.

PENG, G. et al. Dispersive solid-phase extraction followed by vortex-assisted dispersive liquid–liquid microextraction based on the solidification of a floating organic droplet for the determination of benzoylurea insecticides in soil and sewage sludge. **Journal of Separation Science**, 2016. ISSN 1615-9314.

PEREIRA, E. R. et al. Development of a dispersive liquid–liquid microextraction method for iron extraction and preconcentration in water samples with different salinities. **Analytical Methods**, v. 5, n. 9, p. 2273-2280, 2013.

PÉREZ-OUTEIRAL, J.; MILLÁN, E.; GARCIA-ARRONA, R. Determination of phthalates in food simulants and liquid samples using ultrasound-assisted dispersive liquid–liquid microextraction followed by solidification of floating organic drop. **Food Control**, v. 62, p. 171-177, 2016. ISSN 0956-7135.

PŁOTKA-WASYLKA, J. et al. Miniaturized solid-phase extraction techniques. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 73, p. 19-38, 2015. ISSN 0165-9936.

POOLE, C. F.; LENCA, N. Green sample-preparation methods using room-temperature ionic liquids for the chromatographic analysis of organic compounds. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 71, p. 144-156, 2015. ISSN 0165-9936.

PUBCHEM. Disponível em: < <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/> >. Acesso em: 21 de janeiro de 2015.

RAHIMI-NASRABADI, M. et al. Simultaneous determination of carbazole-based explosives in environmental waters by dispersive liquid–liquid microextraction coupled to HPLC with UV-Vis detection. **Microchimica Acta**, v. 177, n. 1-2, p. 145-152, 2012. ISSN 0026-3672.

RAMKUMAR, A.; PONNUSAMY, V. K.; JEN, J.-F. Rapid analysis of chlorinated anilines in environmental water samples using ultrasound assisted emulsification microextraction with solidification of floating organic droplet followed by HPLC-UV detection. **Talanta**, v. 97, p. 279-284, 2012. ISSN 0039-9140.

RAMOS, L. Critical overview of selected contemporary sample preparation techniques. **Journal of Chromatography A**, v. 1221, p. 84-98, 2012. ISSN 0021-9673.

RAVELO-PÉREZ, L. M. et al. Ionic liquid based dispersive liquid–liquid microextraction for the extraction of pesticides from bananas. **Journal of Chromatography A**, v. 1216, n. 43, p. 7336-7345, 2009. ISSN 0021-9673.

REZAEI, M. et al. Determination of organic compounds in water using dispersive liquid–liquid microextraction. **Journal of Chromatography A**, v. 1116, n. 1, p. 1-9, 2006. ISSN 0021-9673.

REZAEI, M.; KHALILIAN, F. A novel method for the determination of trace thorium by dispersive liquid-liquid microextraction based on solidification of floating organic drop. **Química Nova**, v. 39, n. 2, p. 167-171, 2016. ISSN 0100-4042.

REZAEI, M.; YAMINI, Y.; FARAJI, M. Evolution of dispersive liquid–liquid microextraction method. **Journal of Chromatography A**, v. 1217, n. 16, p. 2342-2357, 2010. ISSN 0021-9673.

RIBANI, M. et al. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química nova**, v. 27, p. 771-780, 2004. ISSN 0100-4042.

RS, S. E. D. S. PORTARIA Nº 325/2014 .Estabelece parâmetros adicionais de agrotóxicos ao padrão de potabilidade para substâncias químicas, no controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano no RS. 2014.

RUIZ-ACEITUNO, L.; SANZ, M. L.; RAMOS, L. Use of ionic liquids in analytical sample preparation of organic compounds from food and environmental samples. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 43, p. 121-145, 2013. ISSN 0165-9936.

SALGUEIRO-GONZÁLEZ, N. et al. Determination of alkylphenols and bisphenol A in seawater samples by dispersive liquid–liquid microextraction and liquid chromatography tandem mass spectrometry for compliance with environmental quality standards (Directive 2008/105/EC). **Journal of Chromatography A**, v. 1223, p. 1-8, 2012. ISSN 0021-9673.

SANAGI, M. M. et al. Dispersive liquid–liquid microextraction method based on solidification of floating organic droplet for the determination of triazine herbicides in water and sugarcane samples. **Food Chemistry**, v. 133, n. 2, p. 557-562, 2012. ISSN 0308-8146.

SANTE. **Guidance document on analytical quality control and validation procedures for pesticide residues analysis in food and feed**. Disponível em <http://www.eurlpesticides.eu/library/docs/allcrl/AqcGuidance_Sanco_2013_12571.pdf>. Acesso em: 14 jun. 2016. SANTE/11945/2015. 2015

SARAJI, M.; BOROUJENI, M. K. Recent developments in dispersive liquid–liquid microextraction. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 406, n. 8, p. 2027-2066, 2014. ISSN 1618-2642.

SEEBUNRUENG, K.; SANTALADCHAIYAKIT, Y.; SRIJARANAI, S. Vortex-assisted low density solvent based demulsified dispersive liquid–liquid microextraction and high-performance liquid chromatography for the determination of organophosphorus pesticides in water samples. **Chemosphere**, v. 103, p. 51-58, 2014. ISSN 0045-6535.

SHAMSIPUR, M. et al. Simultaneous preconcentration and determination of 2, 4-D, alachlor and atrazine in aqueous samples using dispersive liquid–liquid microextraction followed by high-performance liquid chromatography ultraviolet detection. **Journal of Separation Science**, v. 35, n. 20, p. 2718-2724, 2012. ISSN 1615-9314.

SHI, Z. et al. Graphene based solid phase extraction combined with ultra high performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry for carbamate pesticides analysis in environmental water samples. **Journal of Chromatography A**, v. 1355, p. 219-227, 2014. ISSN 0021-9673.

SILVEIRA, M. A. K. et al. Quantification of pharmaceuticals and personal care product residues in surface and drinking water samples by SPE and LC-ESI-MS/MS. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 24, n. 9, p. 1385-1395, 2013. ISSN 0103-5053.

SPIETELUN, A. et al. Green aspects, developments and perspectives of liquid phase microextraction techniques. **Talanta**, v. 119, p. 34-45, 2014. ISSN 0039-9140.

SRICHAROEN, P. et al. A novel extraction method for β -carotene and other carotenoids in fruit juices using air-assisted, low-density solvent-based liquid–liquid microextraction and solidified floating organic droplets. **Food Chemistry**, v. 203, p. 386-393, 2016. ISSN 0308-8146.

SUÁREZ, R. et al. On-line in-syringe magnetic stirring assisted dispersive liquid–liquid microextraction HPLC–UV method for UV filters determination using 1-hexyl-3-methylimidazolium hexafluorophosphate as extractant. **Talanta**, v. 148, p. 589-595, 2016. ISSN 0039-9140.

SUI, Q. et al. Occurrence, sources and fate of pharmaceuticals and personal care products in the groundwater: A review. **Emerging Contaminants**, v. 1, n. 1, p. 14-24, 2015. ISSN 2405-6650.

SUN, J.-N.; SHI, Y.-P.; CHEN, J. Ultrasound-assisted ionic liquid dispersive liquid–liquid microextraction coupled with high performance liquid chromatography for sensitive determination of trace celastrol in urine. **Journal of Chromatography B**, v. 879, n. 30, p. 3429-3433, 2011. ISSN 1570-0232.

SZRENIAWA-SZTAJNERT, A.; ZABIEGAŁA, B.; NAMIEŚNIK, J. Developments in ultrasound-assisted microextraction techniques for isolation and preconcentration of organic analytes from aqueous samples. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 49, p. 45-54, 2013. ISSN 0165-9936.

TABAK, H. H.; BUNCH, R. Steroid hormones as water pollutants. I. Metabolism of natural and synthetic ovulation-inhibiting hormones by microorganisms of activated sludge and primary settled sewage. **Dev. Ind. Microbiol**, v. 11, p. 367-376, 1970.

TADESSE, B. et al. Ionic-liquid-based dispersive liquid–liquid microextraction combined with high-performance liquid chromatography for the determination of multiclass pesticide residues in water samples. **Journal of Separation Science**, v. 38, n. 5, p. 829-835, 2015. ISSN 1615-9314.

TANOUE, R. et al. Simultaneous determination of polar pharmaceuticals and personal care products in biological organs and tissues. **Journal of Chromatography A**, v. 1355, p. 193-205, 2014. ISSN 0021-9673.

TOLCHA, T.; MERDASSA, Y.; MEGERSA, N. Low-density extraction solvent based solvent-terminated dispersive liquid–liquid microextraction for quantitative determination of ionizable pesticides in environmental waters. **Journal of Separation Science**, v. 36, n. 6, p. 1119-1127, 2013. ISSN 1615-9314.

TOLEDO-NEIRA, C.; ÁLVAREZ-LUEJE, A. Ionic liquids for improving the extraction of NSAIDs in water samples using dispersive liquid–liquid microextraction by high performance liquid chromatography-diode array–fluorescence detection. **Talanta**, v. 134, p. 619-626, 2015. ISSN 0039-9140.

TOMLIN, C. The pesticide manual: A world compendium. **Farnham, itd: British Crop Protection Council/BCPC**, 2003.

TRUJILLO-RODRÍGUEZ, M. J. et al. Ionic liquids in dispersive liquid-liquid microextraction. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 51, p. 87-106, 2013. ISSN 0165-9936.

TUZEN, M.; PEKINER, O. Z. Ultrasound-assisted ionic liquid dispersive liquid–liquid microextraction combined with graphite furnace atomic absorption spectrometric for selenium speciation in foods and beverages. **Food Chemistry**, v. 188, p. 619-624, 2015. ISSN 0308-8146.

UNESCO, U. **Water for a Sustainable World.** Disponível em: <<http://www.unwater.org/publications/publications-detail/en/c/281166/>>. Acesso em: 26 set. 2015. eSocialSciences. 2015

VÁZQUEZ, M. P. et al. Determination of eight fluoroquinolones in groundwater samples with ultrasound-assisted ionic liquid dispersive liquid–liquid microextraction prior to high-performance liquid chromatography and fluorescence detection. **Analytica Chimica Acta**, v. 748, p. 20-27, 2012. ISSN 0003-2670.

VÁZQUEZ, M. P. et al. Ultrasound-assisted ionic liquid dispersive liquid–liquid microextraction coupled with liquid chromatography–quadrupole-linear ion trap–mass spectrometry for simultaneous analysis of pharmaceuticals in wastewaters. **Journal of Chromatography A**, v. 1291, p. 19-26, 2013. ISSN 0021-9673.

VICKACKAITE, V.; PUSVASKIENE, E. Dispersion-solidification liquid–liquid microextraction for volatile aromatic hydrocarbons determination: Comparison with liquid phase microextraction based on the solidification of a floating drop. **Journal of Separation Science**, v. 32, n. 20, p. 3512-3520, 2009. ISSN 1615-9314.

VIÑAS, P.; CAMPILLO, N.; ANDRUCH, V. Recent achievements in solidified floating organic drop microextraction. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 68, p. 48-77, 2015. ISSN 0165-9936.

WANG, C. et al. Application of dispersion–solidification liquid–liquid microextraction for the determination of triazole fungicides in environmental water samples by high-performance liquid chromatography. **Journal of Hazardous Materials**, v. 185, n. 1, p. 71-76, 2011. ISSN 0304-3894.

WANG, H.; DING, J.; REN, N. Recent advances in microwave-assisted extraction of trace organic pollutants from food and environmental samples. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 75, p. 197-208, 2016. ISSN 0165-9936.

WANG, H. et al. Analysis of phenolic pollutants in human samples by high performance capillary electrophoresis based on pretreatment of ultrasound-assisted emulsification microextraction and solidification of floating organic droplet. **Journal of Chromatography A**, v. 1253, p. 16-21, 2012. ISSN 0021-9673.

WANG, S. et al. Application of ultrasound-assisted ionic liquid dispersive liquid-phase microextraction followed high-performance liquid chromatography for the determination of fungicides in red wine. **Microchimica Acta**, v. 173, n. 3-4, p. 453-457, 2011. ISSN 0026-3672.

WANG, Z. et al. Comprehensive evaluation of pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in typical highly urbanized regions across China. **Environmental Pollution**, v. 204, p. 223-232, 2015. ISSN 0269-7491.

WHO. Guidelines for drinking water quality. Disponível em: <http://whqlibdoc.who.int/publications/2011/9789241548151_eng.pdf>. Acesso em: 24 set. 2015., 2011. ISSN 1413-4152.

WICK, A.; FINK, G.; TERNES, T. A. Comparison of electrospray ionization and atmospheric pressure chemical ionization for multi-residue analysis of biocides, UV-filters and benzothiazoles in aqueous matrices and activated sludge by liquid chromatography–tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1217, n. 14, p. 2088-2103, 2010. ISSN 0021-9673.

WU, C. et al. Determination of organophosphorus pesticides in environmental water samples by dispersive liquid–liquid microextraction with solidification of floating organic droplet followed by high-performance liquid chromatography. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 397, n. 6, p. 2543-2549, 2010. ISSN 1618-2642.

WU, J.-W.; CHEN, H.-C.; DING, W.-H. Ultrasound-assisted dispersive liquid–liquid microextraction plus simultaneous silylation for rapid determination of salicylate and benzophenone-type ultraviolet filters in aqueous samples. **Journal of Chromatography A**, v. 1302, p. 20-27, 2013. ISSN 0021-9673.

XU, H. et al. A novel dispersive liquid–liquid microextraction based on solidification of floating organic droplet method for determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in aqueous samples. **Analytica Chimica Acta**, v. 636, n. 1, p. 28-33, 2009. ISSN 0003-2670.

XU, L. et al. Recent advances in applications of nanomaterials for sample preparation. **Talanta**, v. 146, p. 714-726, 2016. ISSN 0039-9140.

YAN, H.; WANG, H. Recent development and applications of dispersive liquid–liquid microextraction. **Journal of Chromatography A**, v. 1295, p. 1-15, 2013. ISSN 0021-9673.

YAN, Y. et al. Applications of liquid-phase microextraction techniques in natural product analysis: A review. **Journal of Chromatography A**, v. 1368, p. 1-17, 2014. ISSN 0021-9673.

YANG, X. et al. Optimization of dispersive liquid–liquid microextraction based on the solidification of floating organic droplets using an orthogonal array design and its application for the determination of fungicide concentrations in environmental water samples. **Journal of Separation Science**, v. 37, n. 15, p. 1996-2001, 2014. ISSN 1615-9314.

YAO, C. et al. Selective extraction of emerging contaminants from water samples by dispersive liquid–liquid microextraction using functionalized ionic liquids. **Journal of Chromatography A**, v. 1218, n. 12, p. 1556-1566, 2011. ISSN 0021-9673.

YOU, X. et al. Ultrasound-assisted surfactant-enhanced emulsification microextraction based on the solidification of a floating organic droplet used for the simultaneous determination of six fungicide residues in juices and red wine. **Journal of Chromatography A**, v. 1300, p. 64-69, 2013. ISSN 0021-9673.

YU, Y.; WU, L. Analysis of endocrine disrupting compounds, pharmaceuticals and personal care products in sewage sludge by gas chromatography–mass spectrometry. **Talanta**, v. 89, p. 258-263, 2012. ISSN 0039-9140.

ZANJANI, M. R. K. et al. A new liquid-phase microextraction method based on solidification of floating organic drop. **Analytica Chimica Acta**, v. 585, n. 2, p. 286-293, 2007. ISSN 0003-2670.

ZEEB, M.; SADEGHI, M. Modified ionic liquid cold-induced aggregation dispersive liquid-liquid microextraction followed by atomic absorption spectrometry for trace determination of zinc in water and food samples. **Microchimica Acta**, v. 175, n. 1-2, p. 159-165, 2011. ISSN 0026-3672.

ZHANG, H.-F.; SHI, Y.-P. Temperature-assisted ionic liquid dispersive liquid–liquid microextraction combined with high performance liquid chromatography for the determination of anthraquinones in Radix et Rhizoma Rhei samples. **Talanta**, v. 82, n. 3, p. 1010-1016, 2010. ISSN 0039-9140.

ZHANG, H.; CHEN, X.; JIANG, X. Determination of phthalate esters in water samples by ionic liquid cold-induced aggregation dispersive liquid–liquid microextraction coupled with high-performance liquid chromatography. **Analytica Chimica Acta**, v. 689, n. 1, p. 137-142, 2011. ISSN 0003-2670.

ZHANG, H. et al. Simultaneous trace determination of acidic non-steroidal anti-inflammatory drugs in purified water, tap water, juice, soda and energy drink by hollow fiber-based liquid-phase microextraction and ultra-high pressure liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry. **Talanta**, v. 109, p. 177-184, 2013. ISSN 0039-9140.

ZHANG, J. et al. Magnetic retrieval of ionic liquids: fast dispersive liquid–liquid microextraction for the determination of benzoylurea insecticides in environmental water samples. **Journal of Chromatography A**, v. 1254, p. 23-29, 2012. ISSN 0021-9673.

ZHANG, J. et al. Ionic liquid-based totally organic solvent-free emulsification microextraction coupled with high performance liquid chromatography for the determination of three acaricides in fruit juice. **Talanta**, v. 115, p. 556-562, 2013. ISSN 0039-9140.

ZHANG, Y.; LEE, H. K. Ionic liquid-based ultrasound-assisted dispersive liquid–liquid microextraction followed high-performance liquid chromatography for the determination of ultraviolet filters in environmental water samples. **Analytica Chimica Acta**, v. 750, p. 120-126, 2012. ISSN 0003-2670.

_____. 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, 2013. ISSN 0021-9673.

ZHANG, Y. et al. Vortex-Assisted Ionic Liquid Dispersive Liquid-Liquid Microextraction Coupled with High-Performance Liquid Chromatography for the

Determination of Triazole Fungicides in Fruit Juices. **Food Analytical Methods**, v. 9, n. 3, p. 596-604, 2016.

ZHAO, R. S. et al. Rapid Enrichment and Sensitive Determination of Tetrabromobisphenol A in Environmental Water Samples with Ionic Liquid Dispersive Liquid-Phase Microextraction Prior to HPLC–ESI-MS–MS. **Chromatographia**, v. 73, n. 7-8, p. 793-797, 2011b. ISSN 0009-5893.

ZHAO, R. S. et al. Ionic liquid/ionic liquid dispersive liquid–liquid microextraction. **Journal of Separation Science**, v. 34, n. 7, p. 830-836, 2011. ISSN 1615-9314.

ZHAO, R. S. et al. Determination of triclosan and triclocarban in environmental water samples with ionic liquid/ionic liquid dispersive liquid-liquid microextraction prior to HPLC-ESI-MS/MS. **Microchimica Acta**, v. 174, n. 1-2, p. 145-151, 2011c. ISSN 0026-3672.

ZHAO, R. S.; ZHANG, L. L.; WANG, X. Dispersive liquid-phase microextraction using ionic liquid as extractant for the enrichment and determination of DDT and its metabolites in environmental water samples. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 399, n. 3, p. 1287-1293, 2011a. ISSN 1618-2642.

ZHENG, C. et al. Dispersive liquid–liquid microextraction based on solidification of floating organic droplet followed by high-performance liquid chromatography with ultraviolet detection and liquid chromatography–tandem mass spectrometry for the determination of triclosan and 2, 4-dichlorophenol in water samples. **Journal of Chromatography A**, v. 1218, n. 25, p. 3830-3836, 2011. ISSN 0021-9673.

ZHOU, C. et al. Ionic liquid-based dispersive liquid–liquid microextraction with back-extraction coupled with capillary electrophoresis to determine phenolic compounds. **Electrophoresis**, v. 33, n. 8, p. 1331-1338, 2012. ISSN 1522-2683.

ZHOU, Q.-X.; GAO, Y.-Y. Combination of ionic liquid dispersive liquid-phase microextraction and high performance liquid chromatography for the determination of triazine herbicides in water samples. **Chinese Chemical Letters**, v. 25, n. 5, p. 745-748, 2014. ISSN 1001-8417.

ZHOU, Q. et al. Trace determination of organophosphorus pesticides in environmental samples by temperature-controlled ionic liquid dispersive liquid-phase microextraction. **Journal of Chromatography A**, v. 1188, n. 2, p. 148-153, 2008. ISSN 0021-9673.

ZHOU, Q.; ZHANG, X. Combination of ultrasound-assisted ionic liquid dispersive liquid-phase microextraction and high performance liquid chromatography for the sensitive determination of benzoylureas pesticides in environmental water samples. **Journal of Separation Science**, v. 33, n. 23-24, p. 3734-3740, 2010. ISSN 1615-9314.

ZHOU, Q.; ZHANG, X.; XIAO, J. Ultrasound-assisted ionic liquid dispersive liquid-phase micro-extraction: A novel approach for the sensitive determination

of aromatic amines in water samples. **Journal of Chromatography A**, v. 1216, n. 20, p. 4361-4365, 2009. ISSN 0021-9673.

PRODUÇÃO CIENTÍFICA NO PERÍODO DE DOUTORADO

(março 2012 a março de 2016)

Participação em eventos

2014 – 3er Congreso Uruguayo de Química Analítica, Montevideu, Uruguai.

2014 - Simpósio Brasileiro de Cromatografia e técnicas afins, Campos do Jordão, Brasil.

2013 - 15th International Symposium on Advances in Extraction Technologies - ExTech 2013. João Pessoa, Brasil.

2013 - XII Mostra da Produção Universitária. Universidade Federal do Rio Grande- FURG, Rio Grande, Brasil.

2012 - Congresso Latino-Americano de Cromatografia e Técnicas Relacionadas (COLACRO XIV). Florianópolis, Brasil.

Trabalhos publicados em anais de eventos

SANTOS, E. O., Marube, C. L., CALDAS, S. S., SOARES, K. L., PRIMEL, E. G. Otimização da DLLME para determinação simultânea de agrotóxicos e PPCPs em amostras de água In: Simpósio Brasileiro de Cromatografia e Técnicas Afins, 2014, Campos do Jordão

MARUBE, L. C., ESCARRONE, A. L. V., BOLZAN, C. M., CABRERA, L. C., CERQUEIRA, M. B. R., CALDAS, S. S., PRIMEL, E.G. Development of a method employing SPE and LC-ESI-MS/MS for simultaneous determination of antimicrobial products in drinking water In: 15th International Symposium on Advances in Extraction Technologies - ExTech 2013, 2013, João Pessoa

CERQUEIRA, M. B. R., SALCEDO, G. M., MARUBE, L. C., CALDAS, S. S., PRIMEL, E. G. Optimization of the QuEChERS method for the determination of pesticides, pharmaceuticals and personal care products in drinking water treatment sludge by LC-ESI-MS/MS In: 15th International Symposium on Advances in Extraction Technologies - ExTech 2013, 2013, João Pessoa.

CALDAS, S. S., ROMBALDI, C., ARIAS, J. L. O., **MARUBE, L. C.**, PRIMEL, E.G. Solvent de-emulsification dispersive liquid-liquid microextraction for the determination of pharmaceutical, personal care products and pesticides in water samples In: 15th International Symposium on Advances in Extraction Technologies - ExTech 2013, 2013, João Pessoa.

MARUBE, L. C., ESCARRONE, A. L. V., BOLZAN, C. M., GUILHERME, J. R., CERQUEIRA, M. B. R., CALDAS, S. S., GONCALVES, F. F., PRIMEL, E.G. Desenvolvimento de um método empregando SPE e LC-ESI-MS/MS para determinação simultânea de diferentes classes de antibióticos em água potável In: Congresso Latino-Americano de Cromatografia e Técnicas Relacionadas (COLACRO XIV), 2012, Florianópolis.

ARIAS, J. L. O., **CARDOSO, L. V.**, ESCARRONE, A. L. V., CALDAS, S. S., BOLZAN, C. M., GUILHERME, J. R., PRIMEL, E.G. Estudo de método multirresíduo para extração de agrotóxicos em amostras de solo empregando quechers e determinação por LC-MS/MS In: XI Mostra da Produção Universitária - XXI Congresso de Iniciação Científica, 2012, Rio Grande.

CERQUEIRA, M. B. R., GUILHERME, J. R., CALDAS, S. S., **CARDOSO, L. V.**, PRIMEL, E.G. Estudo do método QUECHERS e LC-ESI-MS/MS na extração de agrotóxicos, fármacos e pcps em lodo de estação de tratamento de água In: XI Mostra de Produção Universitária - XIV Encontro de Pós Graduação, 2012, Rio Grande.

CERQUEIRA, M. B. R., GUILHERME, J. R., ARIAS, J. L. O., MELLO, L. L., **CARDOSO, L. V.**, CALDAS, S. S., PRIMEL, E.G. Estudo do método QUECHERS e LC-ESI-MS/MS na extração de agrotóxicos, fármacos e pcps em lodo de estação de tratamento de água In: Congresso Latino-Americano de Cromatografia e Técnicas Relacionadas (COLACRO XIV), 2012, Florianópolis.

ARTIGOS

CALDAS, S. S.; ROMBALDI, C., ARIAS; J. L. O.; **MARUBE, L. C.**; PRIMEL, E.G. Multi-residue method for determination of 58 pesticides, pharmaceuticals and personal care products in water using solvent demulsification dispersive liquid-liquid microextraction combined with liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Talanta*, v.146, p.676 – 688, 2016.

MARUBE, L. C.; CALDAS, S. S.; SOARES, K. L.; ; PRIMEL, E.G. Dispersive liquid-liquid microextraction with solidification of floating organic droplets for simultaneous extraction of pesticides, pharmaceuticals and personal care products. *Mikrochimica Acta* (1966. Print), v. 182, p.1765 – 1774, 2015.

COSTA, C. S. B.; VICENTI, J. R. M.; VILLARREYES, J. A. M.; CALDAS, S. S.; **CARDOSO, L. V.**; FREITAS, R. F.; D'Oca, M. G. M. Extraction and characterization of lipids from *Sarcocornia ambigua* meal: a halophyte biomass produced with shrimp farm effluent irrigation. *Anais da Academia Brasileira de Ciências* (Impresso), v. 86, p. 935-943, 2014.

SAMPAIO, M. R. F.; TOMASINI, D.; **CARDOSO, L.V.**; CALDAS, S.S.; DUARTE, F. A. ; PRIMEL, E.G. A method for the determination of multiclass pesticides in sugarcane juice employing QuEChERS and LC-ESI-MS/MS. *Analytical Methods* (Print), v. 5, p. 2028-2033, 2013.

SAMPAIO, M. R. F.; TOMASINI, D.; **CARDOSO, L.V.**; CALDAS, S. S. ; PRIMEL, E. G. Determination of pesticide residues in sugarcane honey by QuEChERS, and liquid chromatography. *Journal of the Brazilian Chemical Society* (Impresso), v. 23, p. 197-205, 2012.

EXPERIÊNCIAS EM OUTROS PAÍSES

Em 2014, surgiu a oportunidade através do Professor doutor Ayrton Figueiredo Martins, de participar do programa EXCEED/DAAD que é um programa destinado para a gestão sustentável da água nos países em desenvolvimento. O professor é um dos representantes da UFSM no programa EXCEED/DAAD e foi através dele que foi feita a ponte entre FURG-UFSM-EXCEED-DAAD. Visto que, a proposta da tese estava dentro da proposta do programa.

Então foi enviada a proposta de trabalho e foi aceita para ser desenvolvida na Universidade Autônoma do México (UNAM) situada na Cidade do México-México, no período de 7 de maio a 31 de julho de 2014, na qual seria desenvolvida no laboratório de Tratamento e reuso de água do Instituto de Engenharia Hidráulica e Ambiental, chefiado pela professora doutora Blanca Jimenez Cisneros, diretora do centro de ciências da água da UNESCO. Porém foi muito difícil à execução da proposta, em virtude do rígido acesso a esse laboratório, foi possível realizar apenas alguns testes. Entretanto, esta experiência foi muito valiosa profissionalmente, pois foi possível o contato com professores de excelência mundialmente e também a possibilidade de verificar como trabalham outros grupos de pesquisas. Neste período participei de um seminário sobre validação que estava ocorrendo na universidade, foi ministrado um seminário, no qual apresentei a FURG e a proposta de trabalho para os acadêmicos da universidade. Foram realizadas algumas visitas técnicas, dentre elas destaco a visita à planta de tratamento de água de Atotonilco em Tula a maior planta de tratamento de efluentes do mundo. Com esse intercâmbio foi possível o aperfeiçoamento na formação pessoal e a interação dos grupos de pesquisas. Em 2015, através da Professora doutora Gionara Tauchen surgiu a oportunidade de executar o meu projeto de pesquisa em Cabo Verde, África, de uma forma social através de palestras, workshop e aulas mostrando a importância de preservar a água e os métodos desenvolvidos para detectar os contaminantes na água em Cabo Verde, um País que sofre com o fornecimento de água potável. A execução desse projeto foi financiado pela Capes através do programa de Pro-mobilidade internacional das Associações das

Universidades de Língua Portuguesa (AULP) e teve duração de um mês. Foram ministradas palestras em escolas na zona rural e urbana da Cidade da Praia, um curso de segurança no laboratório, e aulas teóricas e práticas para os alunos da universidade, além da participação da Semana internacional da água em Cabo Verde. Todas as atividades estão descritas mais detalhadamente em anexo. Cabe salientar, que com esse intercâmbio, se obteve além de um crescimento profissional, a viabilidade de inserção de alunos da Universidade de Cabo Verde na FURG.

ANEXO 1

PROGRAMA DE MOBILIDADE CAPES-AULP