

USO DE DLLME COMPARADA A SPE PARA A DETERMINAÇÃO DE CONTAMINANTES DE PREOCUPAÇÃO EMERGENTE EM AMOSTRAS AMBIENTAIS*

MIQUEIAS DE CASTRO DA SILVA^{1,2,*}, ENDI ADRIANO FURES³, MARLON ROHR
PIRES^{2,4}, ANDERSON K. RENNER^{2,4}, LIZIARA DA COSTA CABRERA^{2,5}

1 Introdução

O avanço humano trouxe consigo diversas substâncias que refletem o estilo de vida cotidiano da população. Uma sociedade cada vez mais consumista produz essas substâncias em larga escala para atingir o maior número possível de consumidores, conforme descrevem Wolf et al. (2022).

Diante dessa situação, observa-se o uso contínuo e desenfreado de substâncias que alcançam o meio ambiente com facilidade, os chamados contaminantes de preocupação emergente (CPE), categoria que inclui agrotóxicos, parabenos, antibióticos e outras substâncias orgânicas e/ou sintéticas, conhecidas ou não, com potencial de causar impactos negativos à saúde humana e aos demais organismos (Vedana, 2022). A identificação de CPE requer métodos tradicionais e inovadores, selecionados conforme a matriz ambiental e os contaminantes de interesse, sendo a cromatografia e a espectrometria de massa frequentemente empregadas por sua alta precisão e sensibilidade (Montagner et al., 2017).

O presente trabalho teve por objetivo o desenvolvimento e a comparação de métodos analíticos baseados na microextração líquido líquido dispersiva (DLLME, do inglês *dispersive liquid-liquid microextraction*) e na extração em fase sólida (SPE, do inglês *solid phase extraction*), para determinação de 48 CPEs, sendo 38 agrotóxicos, 7 parabenos e 2 antibióticos em amostra de água por cromatografia líquida de ultra performance acoplado à espectrometria de massas em tandem (UPLC-MS/MS, do inglês *Ultra performance liquid chromatography tandem mass spectrometry*).

1 Graduando de Engenharia Ambiental e Sanitária, Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Cerro Largo, contato: miqueias.decastro@gmail.com

2 Núcleo de Síntese, Aplicação e Análise de Compostos Orgânicos e Inorgânicos – NUSAACOI – UFFS.

3 Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil e Ambiental – PPGECA – UFSM.

4 Graduado em Licenciatura em Química, Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Cerro Largo.

5 Doutora em Química, docente na Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Cerro Largo, **Orientadora**.

* Uso de DLLME associada a SPE para a determinação de contaminantes de preocupação emergente em amostras ambientais.

2 Objetivos

Desenvolvimento e validação de método por UPLC-MS/MS e preparo de amostra baseados nas técnicas DLLME e SPE para determinar CPE em amostras aquosas.

3 Metodologia

Todos os testes foram realizados na Central Analítica da UFFS, *campus* Cerro Largo. Para todas as análises foi utilizado um Sistema de Cromatografia Líquida de Ultra performance acoplado à espectrometria de massas em sequência (UPLC-MS/MS), equipamento da Waters, Milford, EUA: coluna Acquity UPLC BEH C₁₈ (2,1x100 mm, 1,7 µm); detector MS triplo quadrupolo, modelo Xevo TQ-S micro; interface/fonte de ionização por eletronebulização; sistema de aquisição de dados *software* MassLynx 4.1.

Para a técnica baseada na DLLME, foram testados três solventes como extratores: tetracloreto de carbono (TDC) (CCl₄) com densidade 1,59 g/cm³ e solubilidade em água de 0,8 g/L, diclorometano (DCM) (CH₂Cl₂) com densidade 1,33 g/cm³ e solubilidade em água de 20 g/L, e isoctano (ISC) (C₈H₁₈) com densidade 0,69 g/cm³ e solubilidade em água de 0,00056 g/L (valores a 20 °C). Os volumes foram 50 e 100 µL, escolhidos de acordo com a disponibilidade em estoque e por serem os menos tóxicos. Os solventes dispersores foram o etanol e a acetona, ambos com densidade de 0,79 g/cm³ a 20 °C e solúveis em água, e volume fixado em 750 µL.

Foram realizados sete testes (T) combinados: **T1** - TDC (50 µL) com etanol; **T2** - DCM (50 µL) com etanol; **T3** - ISC (50 µL) com etanol; **T4** - TDC (100 µL) com acetona; **T5** - DCM (100 µL) com acetona; **T6** - ISC (100 µL) com acetona; e **T7** - TDC (100 µL) com etanol.

A solução extratora com dispersor foi preparada e injetada por uma seringa em 10 mL de amostra de água ultrapura fortificada. A mistura foi para ultrassom por 5 minutos, seguida de centrifugação a 3500 rpm a 20 °C por 5 minutos. Por fim, análise por UPLC-MS/MS.

Para a técnica baseada na SPE, um volume de 250 mL de amostra foi filtrado em membrana de acetato de celulose (0,45 µm) para remoção de interferentes e acidificado a pH 3, condição que favorece a interação de determinados compostos. Em seguida, a amostra foi percolada (fluxo de 10 mL/min) por cartuchos C₁₈ (500 mg, 3 mL), previamente condicionados com metanol e água ultrapura. A eluição dos analitos foi feita com 2 mL de metanol, resultando em um fator de pré-concentração de 125 vezes, seguida de análise cromatográfica.

Por fim, para validação conforme preconiza o INMETRO (2021): os parâmetros de exatidão e precisão foram calculados, com aceite do critério de recuperação entre 50 e 120% e

$DPR \leq 20\%$. Os níveis de concentração avaliados foram 0,5, 1, 10, 20, 50 e 100 $\mu\text{g/kg}$.

4 Resultados E Discussão

Para os testes baseados na técnica da DLLME: No teste T1, com tetracloreto de carbono (TDC) e etanol, a mistura formou emulsão e microbolhas ao ser adicionada à amostra aquosa, mas, após centrifugação, extraiu-se apenas uma gota menor que 20 μL da fase sedimentada, volume insuficiente, resultado do pequeno volume de solvente (50 μL) somado às perdas de fase retida nas microbolhas geradas na injeção. Essa dificuldade em obter volumes maiores já havia sido apontada por Rezaee et al. (2006), precursores da técnica. Já no T4, com TDC e acetona, a emulsão e as microbolhas formadas foram menos intensas, porém houve formação de fase binária, permitindo extrair uma gota de 50 μL , diluída 100 vezes em 50 μL de metanol. Ainda assim, apenas 9 compostos apresentaram recuperação (REC) acima de 30% com desvio padrão relativo (DPR) menor que 20%: o uso de maior volume de TDC com outro dispersor, mesmo viabilizando a extração da gota, trouxe bons resultados para apenas 18,75% dos compostos estudados.

Contudo, no teste T7, com TDC e etanol, foi possível extrair uma gota de 50 μL , seca sob fluxo de nitrogênio e re-diluída em 50 μL de metanol, resultando em um FD de 100 vezes. Dos 48 compostos estudados, apenas 13 apresentaram exatidão adequada, com recuperações entre 35 e 72% e DPR menor que 20%. Esse número reduzido decorre da natureza apolar do TDC frente à ampla polaridade dos analitos: os compostos recuperados são majoritariamente organofosforados, triazóis e estrobilurinas, mais lipofílicos, enquanto os mais polares, como carbamatos, antibióticos e parabenos, particionam de forma desfavorável, cenário agravado pelo pequeno volume de amostra utilizado (10 mL).

No teste T2, com diclorometano (DCM) e etanol, a mistura não gerou emulsão nem microbolhas. O etanol atende ao requisito de miscibilidade da técnica, mas seu uso em volume elevado (750 μL) altera a polaridade da fase contínua, aumentando a solubilidade do extrator e dissolvendo-o em vez de formar gotículas, comportamento também relatado por Zaruba et al. (2024) ao avaliarem a estabilidade da formação turva nessa técnica. O teste T5, com diclorometano e acetona, apresentou comportamento semelhante: após o ultrassom, houve poucas microbolhas e nenhuma formação de fase binária, repetindo a limitação do T2, a afinidade do diclorometano pela água, independentemente do dispersor.

No teste T3, com isoctano (ISC) e etanol, a mistura formou pouca emulsão e, após centrifugação, não houve separação de fases. Condição semelhante ocorreu no T6, com 100 μL de isoctano e 750 μL de acetona: mesmo após o ultrassom, formaram-se poucas microbolhas e não foi possível extrair uma gota da fase suspensa, inviabilizando o experimento, mesma limitação de densidade do T3. O princípio da técnica é gerar emulsão e microbolhas que ampliem a área de contato para captação do analito (Rezaee et al., 2006); como o ISC é menos denso que a água, esperava-se formação de gota superficial, mas o resultado não foi satisfatório em nenhum dos testes, já que o solvente parece ter se solubilizado quase totalmente na água, provavelmente pela combinação de ultrassom e centrifugação.

O método por SPE foi validado e foi adequado para 37 compostos no ensaio intradia, sendo 29 agrotóxicos, 7 parabenos e um antibiótico. Os limites de quantificação foram de 4 ng/L para 8 compostos, 8 ng/L para 21 compostos, 80 ng/L para 6 compostos e, para 2 compostos, 160 ng/L. Esses valores do LOQ são suficientes para o monitoramento de CPE em água de abastecimento, preconizadas na Portaria GM/MS nº 888, de 4 de maio de 2021 do Ministério da Saúde, que classifica os alguns agrotóxicos de acordo com o nível de toxicidade dos compostos, como o carbendazim, profenofós, simazina, entre outros validados.

De modo geral, a DLLME apresentou recuperações inferiores às da SPE. O solvente extrator único e apolar favorece analitos lipofílicos e penaliza compostos polares (carbamatos, neonicotinoides, antibióticos, parabenos), e o menor volume de amostra e de fase extratora reduz a massa de analito disponível. A SPE beneficia-se do maior volume amostral e do fator de pré-concentração (125 vezes), retendo em C_{18} ampla faixa de polaridade, o que explica sua maior robustez.

5 Conclusão

Os testes de DLLME não se mostraram totalmente satisfatórios, já que algumas combinações entre solventes extratores e dispersores não geraram interação suficiente para favorecer a extração, caso do isoctano, que ainda precisa de mais otimização e testes com outros dispersores, além de um planejamento experimental formal. Esse planejamento também poderia beneficiar os testes que já apresentaram resultados, ainda que com poucas recuperações, como o T4 e o T7.

O aprimoramento desses testes pode tornar a DLLME mais econômica em volume de amostra e de solvente, contribuindo para o monitoramento de múltiplos compostos em águas

ambientais. Assim, ela pode se tornar tão viável quanto a SPE que, apesar de eficiente, exige maiores quantidades de amostra e solvente.

Referências Bibliográficas

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria GM/MS nº 888, de 4 de maio de 2021. Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. **Diário Oficial da União, Brasília**, DF, 7 maio. 2021.

INMETRO. **Orientação sobre validação de métodos analíticos**. 2020. Disponível em: http://www.inmetro.gov.br/Sidoq/Arquivos/Cgcre/DOQ/DOQ-Cgcre-8_08.pdf. Acesso em: 27 jul. 2026.

VEDANA, Jaísa. **Estudo ambiental com ênfase nos parabenos encontrados em ambientes lacustres de Florianópolis/SC**. Dissertação de Mestrado (Clima e Ambiente) – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Santa Catarina. Florianópolis, p. 67. 2022.

MONTAGNER, Cassiana C. et al. Contaminantes emergentes em matrizes aquáticas do Brasil: cenário atual e aspectos analíticos, ecotoxicológicos e regulatórios. **Química nova**, 2017.

REZAEI, Mohammad et al. Determination of organic compounds in water using dispersive liquid–liquid microextraction. **Journal of Chromatography A**, v. 1116, n. 1–2, p. 1–9, maio 2006.

WOLF, Mônica et al. Ocorrência de parabenos nas águas de uma microbacia hidrográfica na cidade de Itajaí (Santa Catarina, Brasil). **Estrabão**, v. 3, p. 174–187, 2022.

ZARUBA, Serhii et al. A closer look at how the dispersive liquid–liquid microextraction method works. Investigation of the effect of solvent mixture composition on the quality and stability of the cloudy state. **Frontiers in Chemistry**, v. 12, p. 1383445, 11 jun. 2024.

Palavras-chave: Química ambiental; Cromatografia líquida; Monitoramento.

Nº de Registro no sistema Prisma: PES-2025-0330

Financiamento:

