

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DE
PORTO ALEGRE – UFCSPA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCÊNCIAS**

Lauren Ramos da Silva

**Avaliação de metodologia analítica
para determinação de compostos
orgânicos semivoláteis (SVOCs) em
água utilizando microextração líquido-
líquido dispersiva e cromatografia
gasosa**

UFCSPA
**Universidade Federal de Ciências da Saúde
de Porto Alegre**

**Porto Alegre
2024**

Lauren Ramos da Silva

**Avaliação de metodologia analítica
para determinação de compostos
orgânicos semivoláteis (SVOCs) em
água utilizando microextração líquido-
líquido dispersiva e cromatografia
gasosa**

Dissertação submetida ao Programa de
Pós-Graduação em Biociências da
Fundação Universidade Federal de
Ciências da Saúde de Porto Alegre
como requisito para a obtenção do grau
de Mestre

Orientador: Prof. Dr. Josias de Oliveira Merib

**Porto Alegre
2024**

Catalogação na Publicação

Ramos da Silva, Lauren

Avaliação de metodologia analítica para determinação de compostos orgânicos semivoláteis (SVOCs) em água utilizando microextração líquido-líquido dispersiva e cromatografia gasosa / Lauren Ramos da Silva. -- 2024. 66 p. : tab. ; 30 cm.

Tese (doutorado) -- Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Programa de Pós-Graduação em BioCiências, 2024.

Orientador(a): Josias de Oliveira Merib.

1. grupos, estruturas químicas e algumas propriedades físico-químicas de alguns pesticidas organoclorados.. 2. Estruturas químicas e algumas propriedades físico-químicas dos PAHs.. I. Título.

Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da UFCSPA com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

INSTITUIÇÕES FINANCIADORAS

Para a realização dessa pesquisa, foram utilizados recursos financeiros provenientes da UFCSPA e do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

DEDICATÓRIA

À Aurora, à Paula e ao Júlio.

AGRADECIMENTOS

Agradeço profundamente ao meu orientador, Prof. Dr. Josias Merib. Obrigada por conduzir o mestrado de forma tão tranquila e acolhedora.

Agradeço à Camila Scheid por ser sempre uma amiga incrível, pelos anos de conhecimentos, favores, amostras e ajudas trocadas.

Agradeço à minha mãe e ao meu padrasto por todo apoio, por toda ajuda e por nunca me deixarem desistir mesmo quando tudo parecia impossível.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E UNIDADES	8
LISTA DE FIGURAS	10
LISTA DE TABELAS	11
RESUMO.....	12
ABSTRACT	13
1. INTRODUÇÃO	14
1.1 Contaminação ambiental e compostos orgânicos semivoláteis (SVOCs)...	14
1.1.1. <i>Pesticidas organoclorados</i>	16
1.1.2. <i>Hidrocarbonetos Aromáticos Policíclicos (PAHs)</i>	18
1.1.3. <i>Bifenilas Policloradas (PCBs)</i>	21
1.1.4. <i>Ésteres ftálicos (ftalatos)</i>	22
1.2. Contaminações antropogênicas causadas ao meio ambiente	23
1.3. Técnicas de Preparo de Amostras.....	24
1.3.1. <i>Microextração Líquido-Líquido Dispersiva (DLLME)</i>	25
1.4. Métodos instrumentais para análise de SVOCs.....	27
1.4.1. <i>Cromatografia Gasosa (GC)</i>	29
1.5. Química Verde	32
2. OBJETIVOS	34
2.1. Objetivo Geral	34
2.2. Objetivos Específicos.....	34
2. DISCUSSÃO	58
3. CONCLUSÕES	59
4. REFERÊNCIAS.....	60

LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E UNIDADES

°C – graus Celsius

CETESB – Companhia Ambiental do Estado de São Paulo

CGCRE – Coordenação Geral de Acreditação do Inmetro

CONAMA – Conselho Nacional do Meio Ambiente

DCM - Diclorometano

DDT - Diclorodifeniltricloroetano

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

EI – Ionização Eletrônica, do inglês, *Eletronic Ionization*

FE – Fase Estacionária

FID – Detector de Ionização de Chamas, do inglês, *Flame Ion Detector*

FM – Fase Móvel

GAC – Gerenciamento de Áreas Contaminadas

GC - Cromatografia Gasosa, do inglês, *Gas Chromatography*

GIZ – Agência Alemã de Cooperação Internacional, do alemão, *Deutsche Gesellschaft für Internationale Zusammenarbeit*

HCH - Hexaclorociclohexano

HPLC/DAD - Cromatografia Líquida de Alta Performance /Detetor de Arranjo Diodo, do inglês, *High Performance Liquid Chromatography/Diode Array Detector*
HPLC/UV - Cromatografia Líquida de Alta Performance /Detetor de Ultravioleta-Visível, do inglês, *High Performance Liquid Chromatography/Ultraviolet-Visible Detector*

HPLC/VWD – Cromatografia Líquida de Alta Performance/Detector de Onda Variável, do inglês, *High Performance Liquid Chromatography/Variable Wave Detector*

IM - Incerteza de Medição

LC – Cromatografia Líquida, do inglês, *Liquid Chromatography*

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

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

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

MeOH - Metanol

MS - Espectrômetro de Massas, do inglês, *Mass Spectrometer*

MSD - Detector de Massas, do inglês, *Mass Detector*

OMS – Organização Mundial da Saúde

PAH - Hidrocarbonetos Poliaromáticos, do inglês, *Polycyclic Aromatic Biphenyls*

PCB - Bifenilas Policloradas, do inglês, *Polychlorinated Biphenyl*

PNUMA - Programa das Nações Unidas para o Meio Ambiente

POPs - Poluentes Orgânicos Persistentes

PTFE - Politetrafluoretileno

ReLASC – Rede Latinoamericana de Prevenção e Gerenciamento de Áreas Contaminadas

SIM – Monitoramento de íon selecionado, do inglês, *Selected Ion Monitoring*

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

SVOC - Compostos Orgânicos Semivoláteis, do inglês, *Semivolatile Organic Compounds*

USEPA - Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos da América, do inglês, *United States Environmental Protection Agency*

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura química dos PCBs

Figura 2 - Reação de formação dos ftalatos

Figura 3 - Esquema da microextração líquido-líquido dispersiva.

Figura 4 - Esquema de um sistema de Cromatografia Gasosa

Figura 5 - Esquema de um Detector de Espectrometria de Massas

Figura 6 - Espectro de massas do composto pireno

Figura 7 - Os 12 princípios da Química Verde publicados no site oficial da USEPA

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - grupos, estruturas químicas e algumas propriedades físico-químicas de alguns pesticidas organoclorados.

Tabela 2 - Estruturas químicas e algumas propriedades físico-químicas dos PAHs.

RESUMO

A contaminação ambiental por poluentes orgânicos se tornou um problema ambiental e econômico em escala mundial. Não é de hoje que inúmeras áreas são propensas a contaminações de diversos tipos que incluem os mais variados agentes poluentes. Desta forma, leis e regulamentações têm sido criadas com o intuito de reduzir este problema que está disseminado no mundo todo. Em 1972, ocorreu a Convenção de Estocolmo, nela foram apresentados os Poluentes Orgânicos Persistentes (POPs) compostos à base de carbono com tempo de meia-vida alto, que não sofrem degradação no meio ambiente e por isso podem se distribuir e acumular no meio ambiente, sofrendo biomagnificação e apresentando alta toxicidade aos seres humanos e ao meio ambiente. Dentre os POPs estão os Compostos Orgânicos Semivoláteis (SVOCs) que apresentam volatilidades intermediárias, ou seja, são abundantes tanto na fase condensada quanto na fase de vapor em pressão e temperatura ambientes. Os SVOCs são um grande grupo de compostos orgânicos que se subdividem em diversos outros grupos como os Pesticidas Organoclorados, Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (PAHs), Bifenilas Policloradas (PCBs), Ftalatos, e muitos outros. Neste trabalho foi proposto o desenvolvimento, otimização e validação de uma metodologia analítica para a determinação de SVOCs em água por microextração líquido-líquido dispersiva e cromatografia gasosa. A metodologia é uma alternativa mais sustentável em comparação com as metodologias oficiais para a análise de água da torneira, água do mar, água tratada, água subterrânea e água de lagoa. O fluxo de trabalho experimental foi parcialmente otimizado usando um planejamento Doehlert, e 500 µL de diclorometano (solvente de extração) foram utilizados para analisar 15 mL de água. Além disso, 500 µL de metanol (solvente dispersor), 15 s de vórtice e 2 min de centrifugação também foram utilizados para a metodologia de preparo da amostra. Nessas condições foram alcançados parâmetros analíticos satisfatórios com coeficientes de determinação (r^2) superiores a 0,9635, limites de detecção (LOD) de 3,0 a 6,0 µg L⁻¹, limites de quantificação (LOQ) de 10,0 a 20,0 µg L⁻¹, precisão intradiária de 1,66 a 29,50% e precisão interdiária de 9,32 a 23,54%.

Palavras-chave: preparo de amostra; DLLME; SVOC.

ABSTRACT

Environmental contamination with organic pollutants has become an environmental and economic problem on a global scale. It is noteworthy that numerous areas are prone to contamination with varied polluting agents. In this regard, laws and regulations have been created with the aim of reducing this problem that is widespread worldwide. In 1972 at the Stockholm Convention, the concept of Persistent Organic Pollutants (POPs) was presented. These carbon-based compounds exhibit a long half-life, do not suffer degradation in the environment and they can be distributed and accumulated, undergoing biomagnification and presenting high toxicity. Among POPs, Semivolatile Organic Compounds (SVOCs) can be highlighted. These contaminants present intermediate volatilities, being abundant in both the condensed phase and the vapor phase at ambient pressure and temperature. SVOCs are a large group of organic compounds that are subdivided into several other groups such as Organochlorine Pesticides, Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs), Polychlorinated Biphenyls (PCBs), Phthalates, and others. In this work, the development, optimization and validation of a simultaneous and multiclass analytical methodology for evaluating SVOCs in water by dispersive liquid-liquid microextraction and gas chromatography has been proposed. The methodology is a more sustainable than an official methodology for the analysis of tap water, sea water, treated water, groundwater and lagoon water. The experimental workflow was partially optimized using a Doehlert design, and 500 μL of dichloromethane (extraction solvent) was adopted to analyze 15 mL of water sample. Furthermore, 500 μL of methanol (dispersing solvent), 15 s of vortexing and 2 min of centrifugation were also adopted for the sample preparation methodology. Under these conditions, satisfactory analytical parameters of merit were achieved with coefficients of determination (r^2) greater than 0.9635, limits of detection (LOD) from 3.0 to 6.0 $\mu\text{g/L}$, limits of quantification (LOQ) from 10.0 to 20.0 $\mu\text{g/L}$, intraday precision from 1.66 to 29.50% and interday precision of 9.32 to 23.54%.

Keywords: sample preparation; DLLME; SVOC.

INTRODUÇÃO

1.1 Contaminação ambiental e compostos orgânicos semivoláteis (SVOCs)

A contaminação ambiental consiste em um problema de extrema gravidade e que apresenta influência na saúde pública como um todo. Não é de hoje que inúmeras áreas são propensas a contaminações de diversos tipos que incluem os mais variados agentes poluentes. Desta forma, leis e regulamentações têm sido criadas com o intuito de reduzir este problema que está disseminado no mundo todo. Infelizmente, mesmo com todo o aparato regulatório, muitas áreas continuam sendo castigadas por ações antropogênicas que carecem de bom senso e zelo pelo meio ambiente.

Em 1972, ocorreu a primeira Conferência das Nações Unidas para o Desenvolvimento e Meio Ambiente Humano, que ficou comumente conhecida como Convenção de Estocolmo, pela cidade ter sediado a Conferência. O evento se tornou um marco histórico por ser a primeira reunião mundial para discutir o meio ambiente. Nela, foram apresentados os Poluentes Orgânicos Persistentes, os POPs, compostos à base de carbono com tempo de meia-vida alto, que não sofrem degradação no meio ambiente e por isso podem se distribuir e acumular, sofrendo biomagnificação e apresentando alta toxicidade aos seres humanos e ao meio ambiente.

Na primeira edição da Convenção foram apresentados os 12 POPs, entre eles estavam pesticidas organoclorados, produtos químicos industriais e subprodutos químicos (THE STOCKHOLM CONVENTION, 2023). A Conferência foi a peça-chave para a criação do Programa das Nações Unidas para o Meio Ambiente (PNUMA) que tem como objetivo coordenar as ações internacionais de proteção ao meio ambiente e promoção do desenvolvimento sustentável (RIBEIRO, 2001).

Atualmente, a contaminação por poluentes orgânicos se tornou um problema ambiental e econômico em escala mundial. Como citado anteriormente, a Convenção de Estocolmo já mostrava os perigos dos contaminantes orgânicos. No ano de 1993, um acordo de cooperação técnica entre Brasil e Alemanha surgiu a fim de elaborar e aperfeiçoar um sistema de gestão de áreas contaminadas. Na época, a CETESB, Companhia de Tecnologia e Saneamento

Básico do Estado de São Paulo e a GIZ, Agência Alemã de Cooperação Internacional, criaram a Rede Latinoamericana de Prevenção e Gestão de Áreas Contaminadas, a ReLASC. Atualmente, oito países da América Latina são sócios da Rede, Argentina, Brasil, Chile, Colômbia, Equador, México, Peru e Uruguai. Desde o ano de 2015, Comitê Técnico está situado no Peru (RELASC, 2015).

Os POPs, segundo definição da CETESB são

substâncias químicas orgânicas sintéticas, diferenciadas de outras substâncias químicas por possuírem uma combinação particular de características físicas e químicas, tais como: semivolatilidade, persistência, bioacumulação e toxicidade (2023).

Dentre os POPs podem ser encontrados os chamados Compostos Orgânicos Semivoláteis (SVOC), do inglês, *Semivolatile Organic Compounds*. Estes compostos englobam um grande grupo de substâncias com características físico-químicas bastante similares. Geralmente, apresentam volatilidades intermediárias, ou seja, são abundantes tanto na fase condensada quanto na fase de vapor em pressão e temperatura ambientes (WESCHLEER, NAZAROFF, 2008).

Tendo em vista a volatilidade intermediária, esta característica faz com que estes compostos tenham grande possibilidade de serem transportados de uma região para outra do globo terrestre. Uma vez produzidos em climas mais quentes, se apresentam na forma volátil, ao encontrar locais mais frios, como os pólos, locais em que essas substâncias nunca foram utilizadas, esses compostos se condensam e se depositam no solo e na água. Sendo esta, umas das razões pela qual os POPs não são preocupação apenas nos locais em que são produzidos e utilizados e sim, mundialmente, por sua capacidade de volatilização (CETESB, 2023).

A persistência é medida através do tempo de meia-vida, ou seja, o tempo em que o composto ficará no meio até que metade da sua quantidade seja degradada. De acordo com a Convenção de Estocolmo, um composto é um POP quando seu tempo de meia-vida na água ultrapassa dois meses; no solo é maior que seis meses e no ar é superior a dois dias (CETESB, 2023). Contudo, os tempos de meia-vida podem sofrer alterações de acordo com o clima do local, considerando-se a umidade, a temperatura e também as características das matrizes onde se encontram (MISRA et al., 2007).

Outro fator bastante preocupante em relação aos POPs consiste na bioacumulação. A bioacumulação é o processo pelo qual a concentração do composto aumenta nos tecidos de um organismo vivo quando comparada a concentração do meio ambiente. A bioacumulação é magnificada pela lipofilicidade dos compostos e insolubilidade em água (CETESB, 2023). Desta forma, tendo em vista as características físico-químicas, uma grande parte dos SVOCs apresenta significativa lipofilicidade.

Nas próximas seções serão especificados alguns tipos de compostos orgânicos semivoláteis que serão objeto deste estudo. Particularmente, estruturas químicas, propriedades físico-químicas e algumas características inerentes a cada classe serão elencadas e discutidas.

1.1.1. Pesticidas organoclorados

O termo pesticida é utilizado para englobar substâncias químicas que tenham como objetivo eliminar ou controlar pestes (ONGLEY, 1990). Em meados dos anos 1950, durante o pós-guerra, ocorreu a Revolução Verde, a modernização da agropecuária com o uso de maquinários, sementes transgênicas e o uso de pesticidas. O objetivo da Revolução Verde era aumentar a produtividade e a qualidade dos produtos, principalmente em locais em que a agricultura intensiva era realizada (HASSAAN et al, 2020).

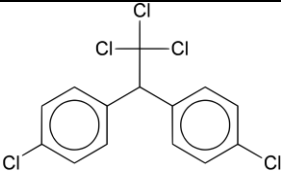
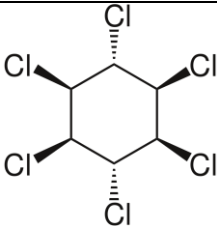
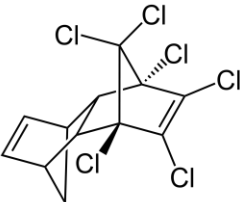
Os Compostos Orgânicos Clorados, comumente chamados de Pesticidas Organoclorados, surgiram em meados de 1945 e 1955, sendo compostos sintéticos. Dentre as suas características benéficas à agricultura estão a resistência à degradação por meios químicos e biológicos, além de boa seletividade frente a alvos específicos o que proporciona elevada eficácia na eliminação de pragas. Por outro lado, a persistência e efeitos tóxicos ao meio ambiente e aos seres humanos evidenciam-se como grandes problemas relacionados a estes compostos (STEPHENSON, SOLOMON, 1993). Os organoclorados são compostos lipofílicos, o que resulta em bioacumulação no meio ambiente e, também, a biomagnificação na cadeia trófica. Sendo assim, os organismos no topo da cadeia alimentar estão mais suscetíveis a intoxicação. Quanto à intoxicação e exposição, Mesquita (2001) citou Ritter (1995):

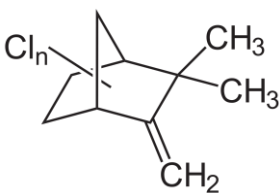
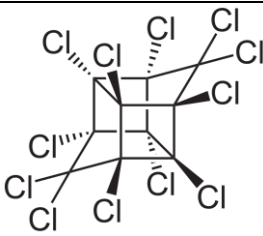
“A exposição crônica e a baixas concentrações por longos períodos a estes pesticidas representa um grande risco para a saúde humana, sua longa meia-vida resulta em acúmulo dessas substâncias no organismo animal, por isso essa exposição tem sido associada a efeitos como imunotoxicidade, efeitos dérmicos, problemas relacionados à reprodução e carcinogenicidade.”

No ano de 1985, o Ministério da Agricultura publicou a Portaria nº 329,, proibindo a comercialização, o uso e a distribuição de pesticidas organoclorados destinados à agricultura no país (BRASIL, 1985). Contudo, essa Portaria permite o uso dos organoclorados em campanhas de saúde pública. Por conseguinte, diversas outras leis para a proibição, controle e gerenciamento de estoques e resíduos foram criadas (CETESB).

Os pesticidas organoclorados são classificados, estruturalmente, em cinco grandes grupos, conforme mostra a **Tabela 1**.

Tabela 1: grupos, estruturas químicas e algumas propriedades físico-químicas de alguns pesticidas organoclorados.

Grupo	Estrutura Química	logP ^a	Ponto ebulição (°C) ^a
DDT (diclorodifeniltricloroetano) e seus análogos		6,9	260
HCH - hexaclorociclohexano		3,8	323
Ciclodienos (ex: aldrin)		4,5	145

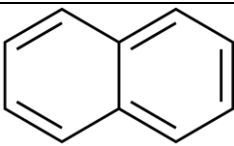
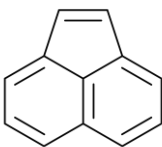
Toxafeno		4,9	155
Mirex		5,3	485

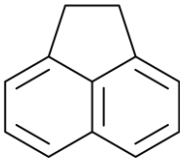
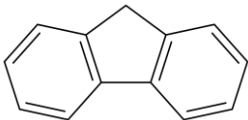
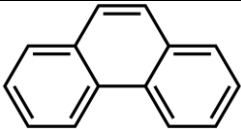
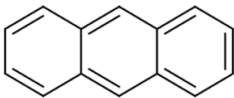
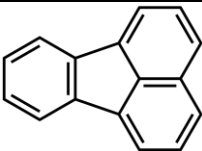
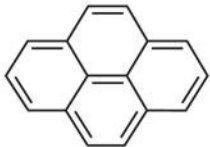
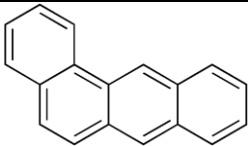
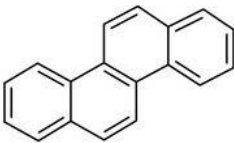
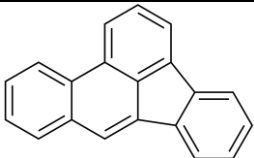
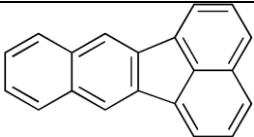
Fonte: ^aPubchem, 2024

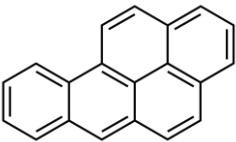
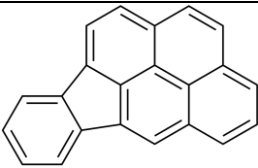
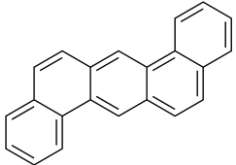
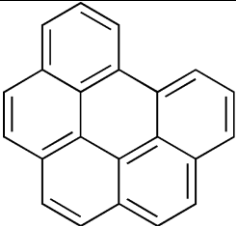
1.1.2. Hidrocarbonetos Aromáticos Policíclicos (PAHs)

Os PAHs, do inglês *Polycyclic Aromatic Hydrocarbons*, são compostos formados, basicamente, por anéis aromáticos, contendo apenas carbono e hidrogênio, e de acordo com a configuração dos anéis, as propriedades dos compostos são diferentes. Na **Tabela 2** são apresentados os PAHs e suas estruturas químicas e algumas propriedades físico-químicas. O log P apresentado na tabela indica maior solubilidade do composto em água, se $\log P < 1$, ou maior solubilidade em 1-octanol, se $\log P > 1$ (PERUZZO, 2015).

Tabela 2 - Estruturas químicas e algumas propriedades físico-químicas dos PAHs.

Compostos	Estrutura Química	$\log P^a$	Ponto ebulição (°C) ^a
Naftaleno		3,3	218
Acenaftileno		3,7	280

Acenafteno		3,9	277,5
Fluoreno		4,2	294
Fenantreno		4,5	338,4
Antraceno		4,4	341,3
Fluoranteno		5,2	384
Pireno		4,9	394
Benzo(a)antraceno		5,8	437,6
Criseno		5,7	448
Benzo(b)fluoranteno		6,4	480
Benzo(k)fluoranteno		6,4	480

Benzo(a)pireno		6	310
Indeno(1,2,3-cd)pireno		7	536
Dibenzo(a,h)antraceno		6,5	524
Benzo(g,h,i)perileno		6,6	550

Fonte: ^a Pubchem, 2024

Estes compostos possuem baixa solubilidade em água e altos pontos de ebulição, sendo também classificados como Poluentes Orgânicos Persistentes (POPs) (PATEL et al, 2020). As fontes de emissão de PAHs são provenientes de três formas: (I) pirogênica, em que os compostos são formados pela combustão incompleta de matéria orgânica sob baixa disponibilidade de oxigênio; (II) petrogênica, que ocorre naturalmente em carvão e óleos brutos; (III) biogênica, sendo esta a menor fonte de poluição ocorrendo devido a erupções vulcânicas, incêndios florestais, infiltrações de petróleo e degradação de biomassa (HINDERSMANN; FÖRSTER; ACHTEN, 2020; MOJIRI et al, 2019).

A Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos, USEPA, classifica os PAHs como uma ameaça ao meio ambiente e à saúde humana devido a sua alta persistência no meio ambiente, e sua conhecida carcinogenicidade e mutagenicidade (LIU., et al, 2019). Hindersmann, Förster e Achten (2020) comentam que os dezesseis PAHs classificados como poluentes principais pela USEPA deveriam ser reavaliados, uma vez que a lista de compostos desta classe é maior e a Agência os nomeou no ano de 1979 (USEPA, 1979).

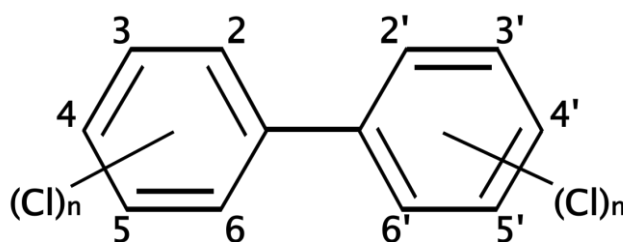
1.1.3. Bifenilas Policloradas (PCBs)

A sigla PCB advém do inglês, *Polychlorinated Biphenyls*, que são compostos orgânicos clorados sintéticos produzidos inicialmente em 1881 pelos alemães e utilizados em larga escala pelos Estados Unidos a partir de 1929. Os PCBs eram utilizados como fluidos de troca de calor em transformadores e capacitores, aditivos de tintas, selantes e plásticos (MERHABY et al, 2019). A produção de PCBs foi banida em 1979 nos Estados Unidos, enquanto no Brasil, o comércio e a produção foram proibidos somente em 1981.

A nomenclatura dos PCBs deriva da variação do número de átomos de cloro e suas posições na molécula. Teoricamente, é possível até 209 combinações, logo, 209 PCBs diferentes, chamadas de congêneres. A **Figura 1** mostra a estrutura química das bifenilas e as posições em que os átomos de cloro podem se ligar (VALENTE, 2011; MILLS III et al, 2007).

Os PCBs são resistentes à metabolização, consequentemente, sofrem biomagnificação na cadeia alimentar. Podem ser encontrados em água, solo, ar, sedimento, e até mesmo em áreas do Ártico. Devido à sua persistência na cadeia alimentar, já foram encontrados traços de PCBs em leite e no sangue humano (LETZ, 1983). Segundo a USEPA (2023), os PCBs são os contaminantes ambientais mais estudados mundialmente. Os estudos toxicológicos realizados com animais de laboratório puderam demonstrar que os PCBs podem causar diversos efeitos à saúde. Neste caso, foram relatados efeitos tóxicos nos sistemas imunológico, reprodutor, nervoso e endócrino. Quanto à carcinogenicidade, em 1996 a USEPA realizou um estudo dos PCBs através de uma série de testes com animais de laboratório. O estudo comprovou que há possibilidade de os PCBs serem carcinogênicos aos humanos (USEPA, 2023).

Figura 1 - estrutura química dos PCBs



Fonte: HOWART et al, 2015.

1.1.4. Ésteres ftálicos (ftalatos)

Os ftalatos são compostos orgânicos sintéticos utilizados com o objetivo de aumentar a flexibilidade e a durabilidade dos produtos. São utilizados como plastificantes, sendo também encontrados em produtos de cuidados pessoais como esmaltes para as unhas, brinquedos, roupas e produtos hospitalares (RODRIGUES, 2021). Contudo, estes compostos não são incorporados quimicamente nos plásticos, sendo aderidos apenas fisicamente. Com isso, os ftalatos podem migrar para o meio ambiente em virtude de lixiviação, evaporação ou abrasão (BENJAMIN et al, 2015). Durante a fabricação, produção e descarte, os ftalatos são liberados no meio ambiente, poluindo o solo, o ar e a água. Eles sofrem biodegradação, mas a velocidade do processo depende das características físico-químicas dos compostos (CETESB, 2022). Por essas razões, a concentração dos ftalatos podem ser medidas em matrizes como ar, água, solo e poeira (RODRIGUES, 2021).

Os ftalatos são muito diversos e isso se deve a cadeia de álcoois que podem ser ligados à cadeia principal, conforme a **Figura 2** que mostra o processo de esterificação sofrida pelos ftalatos. De acordo com o número de carbonos e de álcoois ligados à estrutura, os ftalatos podem ser divididos em dois grupos, de baixo e alto peso molecular. Sendo assim, cada grupo terá características diferentes, aplicação e toxicidade (NORTH et al, 2014; POLANSKA et al, 2014).

Figura 2 - reação de formação dos ftalatos



Fonte: adaptado de MUCZYNSKI, 2011

Os ftalatos são classificados como disruptores endócrinos, pois causam efeitos tóxicos aos sistemas reprodutor e interferem na regulação endócrina de animais e humanos, uma vez que são capazes de mimetizar o hormônio 17β-

estradiol. Além disso, vários estudos, epidemiológicos e com animais, tem encontrado a presença destes compostos em sistemas cardiovasculares, reprodutores (feminino e masculino), sistema renal e funções hepáticas (RODRIGUES, 2021).

1.2. Contaminações antropogênicas causadas ao meio ambiente

No século XIX, houve o desenvolvimento da indústria petrolífera, principalmente no que se refere à produção de combustíveis utilizados em transportes motorizados. Até os dias atuais, o petróleo segue sendo a principal fonte de energia para as mais diversas funcionalidades. Apesar de apresentar diversos benefícios, esse setor oferece grande risco ambiental, seja através de acidentes ou vazamentos de postos de gasolina, o solo e a água são contaminados por hidrocarbonetos conforme descritos anteriormente. Para reestabelecer a área contaminada é necessário realizar o Gerenciamento de Área Contaminada (GAC), a partir das diversas etapas de remediação, processo longo e oneroso (SANTOS et al., 2008).

Além da indústria petrolífera, outros ramos industriais tiveram grande avanço nos últimos séculos. Entretanto, muitas vezes, a preocupação ambiental tornou-se elemento secundário no processo de manufatura industrial. Devido a este descaso com o meio ambiente, diversos locais têm sido frequentemente castigados com o derramamento e uso indiscriminado de produtos industriais que podem causar sérios danos ao ambiente e à saúde humana. Neste caso, os SVOCs discutidos anteriormente tais como pesticidas, ésteres de ftalato, bifenilas policloradas, entre outros podem ser encontrados em matrizes variadas que podem incluir solos, águas superficiais e subterrâneas, sedimentos, etc.

No Brasil, a Resolução nº 420 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA), de 2009, que regulamenta os valores orientadores de contaminantes nos solos e água subterrânea e estabelece diretrizes para o GAC em decorrência de atividades antrópicas. Contudo, não há um órgão regulamentador nacional, os órgãos estaduais e/ou municipais que devem fiscalizar as áreas. Nessa Resolução, o CONAMA apresenta valores para metais, PAHs, hidrocarbonetos aromáticos voláteis, SVOCs e pesticidas organoclorados (BRASIL, 2009).

As áreas contaminadas trazem diversos risco à saúde humana, como a desregulação metabólica, insuficiência de órgãos e mal-estar ao respirar o odor devido à volatilização dos contaminantes. De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), a poluição do ar provoca, anualmente, mais de 50 mil mortes no Brasil. Em paralelo, um estudo realizado pelo Ministério da Saúde (MS) estimou a morte de mais de 44 mil pessoas devido a doenças crônicas não transmissíveis devido à poluição do ar no país (BRASIL, 2021).

Em relação ao meio ambiente, as áreas contaminadas trazem consequências como a falta de vegetação e de agentes polinizadores bióticos. Em se tratando dos corpos hídricos, a contaminação pode estar presente em águas superficiais, como rios, lagos e oceanos, como em águas subterrâneas. As substâncias químicas comprometem a qualidade da água, tornando-a imprópria para uso humano e prejudicando o ecossistema aquático. No solo, as substâncias afetam a fertilidade, reduzem a biodiversidade do ecossistema, contaminam os alimentos, gerando riscos para a saúde humana. Em casos de lixiviação, a contaminação pode ser levada até as águas subterrâneas (D'OLIVEIRA et al., 2023).

Tendo em vista este grande problema, o monitoramento da concentração de contaminantes ambientais em diversas matrizes apresenta um papel fundamental atualmente. Com este intuito, técnicas de separação que incluem métodos cromatográficos empregando instrumentação moderna têm sido utilizadas para a determinação de diversos analitos. Entretanto, na maioria dos casos, técnicas de preparo de amostras utilizadas previamente à análise instrumental são imprescindíveis para o sucesso da análise.

1.3. Técnicas de Preparo de Amostras

O preparo de amostra é uma das etapas mais cruciais para obtenção de resultados precisos e exatos em uma análise química (MARTINS et al., 2012). O objetivo do preparo de amostra é limpar o extrato, pré-concentrar e isolar os analitos para que sejam facilmente detectados pelo equipamento analítico. Uma das técnicas mais utilizadas para amostras aquosas é a Extração Líquido-Líquido (LLE), em que os analitos migram da amostra aquosa para um solvente orgânico imiscível em água. Contudo, como significativas desvantagens encontram-se a

formação de emulsão durante o procedimento acarretando uma diminuição da fração extraída dos analitos, ainda, esta técnica requer altos volumes de amostra e também de solventes orgânicos, consome muito tempo do analista, é onerosa e gera grandes quantidades de resíduo (RAZAEI et al., 2010).

Nas últimas décadas, a comunidade científica tem concentrado muitos esforços no desenvolvimento de técnicas de preparo de amostra que sejam tão eficientes quanto às clássicas, mas que sejam mais baratas, que necessitem de menor tempo de bancada e que requeiram menor quantidade de solventes tóxicos (RAZAEI et al., 2010).

Desta forma, as técnicas de microextração, nas quais volumes reduzidos de solventes são empregados, estão sendo desenvolvidas e aperfeiçoadas. Entretanto, algumas destas técnicas apresentam alto custo de implementação como é o caso da microextração em fase sólida (SPME) utilizando-se fibras comerciais, uma vez que necessita de aquisição de das fibras poliméricas que são empregadas para realizar a extração dos analitos previamente à injeção no cromatógrafo (VALENTE, AUGUSTO, 1999).

1.3.1. Microextração Líquido-Líquido Dispersiva (DLLME)

Como mencionado anteriormente, técnicas de extração como a LLE demandam muito tempo e grandes volumes de amostra e solventes orgânicos. Estas desvantagens permitiram o desenvolvimento de novas técnicas baseadas em fase líquida para a extração de analitos de matrizes aquosas. Uma destas técnicas consiste na Microextração Líquido-líquido Dispersiva (DLLME) do inglês, *dispersive liquid-liquid microextraction*.

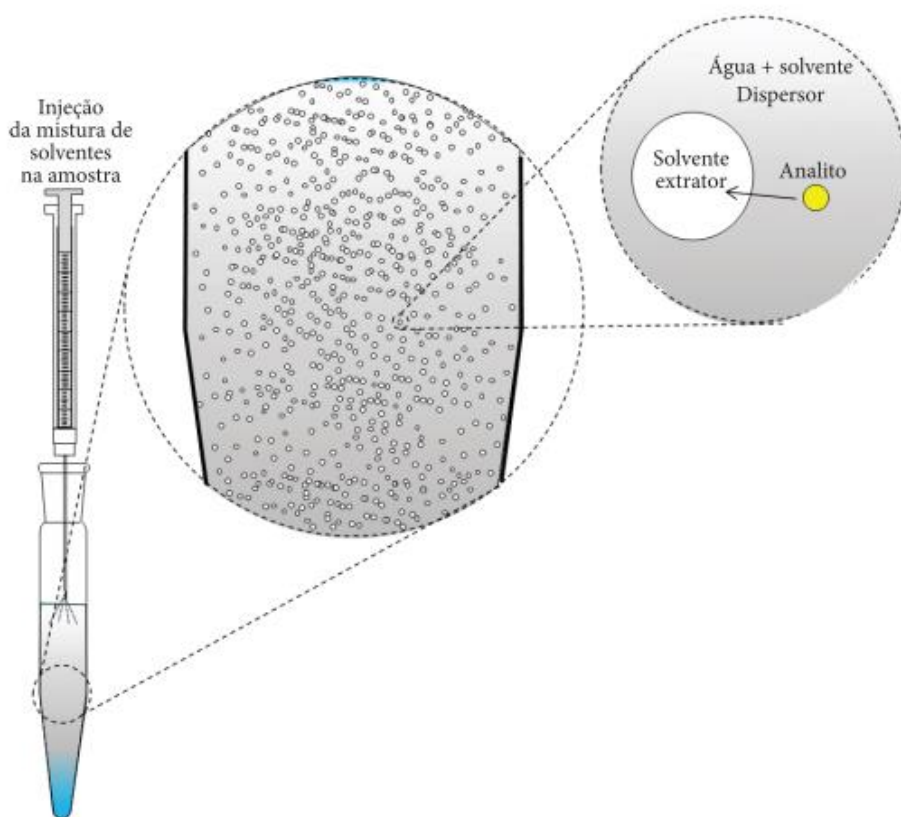
A DLLME foi desenvolvida por Razaee e colaboradores em 2006 para a determinação de PAHs em água. Esse método apresenta alta eficiência de extração, rapidez e baixo custo comparado às demais metodologias já disponíveis. Com isso, a DLLME se mostra eficiente para atingir baixos limites de quantificação (LOQs), utiliza volumes significativamente menores de solventes e amostra, sendo também muito mais barata em relação às técnicas previamente mencionadas.

Como descrito no estudo de Razaee (2006), a DLLME utiliza dois solventes, um destes é miscível na amostra aquosa (solvente dispersor) e outro

apresenta-se imiscível na amostra (solvente extrator), porém este é miscível no solvente dispersor. A partir disso, forma-se um sistema ternário de solventes. Neste caso, o solvente extrator deve apresentar elevada hidrofobicidade e possuir características físico-químicas que permitam uma boa afinidade com os compostos de interesse presentes na amostra aquosa.

Como a nomenclatura já indica, o solvente dispersor possui como função a dispersão do solvente extrator pela amostra o que eleva consideravelmente a área superficial do solvente extrator. A partir disso, forma-se uma solução turva com elevada área superficial o que proporciona uma cinética de extração bastante rápida. Geralmente, a DLLME necessita de apenas poucos minutos para a extração dos analitos presentes em amostras aquosas. Cabe ressaltar que a mistura dos solventes extrator e dispersor deve ser injetada rapidamente na amostra aquosa a fim da obtenção de uma solução turva que permita a rápida extração dos analitos. Este processo é mostrado no esquema da **Figura 3**.

Figura 3 - Esquema da microextração líquido-líquido dispersiva.



Fonte: Martins et al, 2014.

Após o processo de extração, geralmente o conteúdo do frasco é submetido a uma etapa de centrifugação para a adequada separação de fases. A fase orgânica (enriquecida com os analitos) é então coletada com auxílio de uma microseringa e levada para a análise instrumental. Esta técnica apresenta uma alta versatilidade uma vez que diversos solventes orgânicos podem ser testados e avaliados para a extração dos analitos. Como desvantagem, pode ser citada a grande dificuldade para automatizar o procedimento uma vez que algumas etapas manuais são necessárias para a realização do fluxo experimental da técnica.

1.4. Métodos instrumentais para análise de SVOCs

A principal técnica analítica utilizada para a determinação de SVOCs é a cromatografia. A cromatografia é uma técnica físico-química de separação baseada na migração diferencial dos analitos quando transportados através de uma fase estacionária (FE) por uma fase móvel (FM). Esta técnica vem apresentando significativo avanço tecnológico desde a sua proposta inicial em 1903 no qual colunas eram preenchidas com determinadas fases estacionárias capazes de separar pigmentos de extratos vegetais. Atualmente, modernos e sofisticados instrumentos são comercializados com o intuito de promover separações eficientes de diversos tipos de compostos.

Existe uma série de classificações envolvendo cromatografia, mas talvez a principal diga respeito à constituição da fase móvel da técnica. Caso a fase móvel apresente-se na forma líquida, classifica-se a técnica como Cromatografia Líquida (LC). Entretanto, caso a fase móvel apresente-se na forma de um gás, trata-se de Cromatografia Gasosa (GC). Além destas, tem-se ainda a Cromatografia por Fluido Supercrítico (SFC) na qual um fluido em estado supercrítico é utilizado como fase móvel. Cabe ressaltar que esta última é significativamente menos utilizada que as duas primeiras mencionadas.

Segundo Skoog et al (2014), a cromatografia é uma técnica capaz de separar, identificar e quantificar compostos químicos em misturas complexas. Com isso, análises qualitativas e quantitativas podem ser obtidas pelo emprego de padrões analíticos de alta pureza e condições cromatográficas que são otimizadas para cada conjunto de analitos.

A cromatografia líquida tem sido largamente aplicada para a separação/detecção de contaminantes ambientais. Resumidamente, a LC baseia-se no uso de uma em uma fase móvel líquida e de uma fase estacionária contida na coluna cromatográfica pode ser recheada com um sólido, um líquido retido sobre um sólido ou um gel.

Para realizar a análise de diversos analitos por cromatografia líquida é geralmente utilizado instrumento que contém um sistema de bombas que, continuamente, bombeiam a FM pelo sistema cromatográfico. Comumente, a cromatografia envolvendo sistemas pressurizados e com alta eficiência de separação é designada por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), do inglês *high-performance liquid chromatography*. A FM é, geralmente, uma mistura de líquidos como água ultrapura e solventes que interagem com a amostra e com a FE para realizar a separação dos compostos.

Ao final da separação, diversos tipos de detectores têm sido empregados para a detecção do sinal analítico proveniente dos compostos que estão sendo avaliados. Detectores espectrofotométricos como os de ultravioleta/visível (UV-VIS) e detector por arranjo de diodos (DAD) são bastante úteis para analitos que apresentam grupos cromóforos em sua estrutura química. Outro sistema de detecção muito útil é baseado em espectrometria de massas. Entretanto, o nível de sofisticação deste último ocasiona um significativo aumento no custo total do sistema analítico.

Algumas aplicações da cromatografia líquida de alta eficiência para determinação de contaminantes ambientais incluem os trabalhos propostos por Xu e colaboradores (2009) que utilizaram a técnica de Cromatografia Líquida de Alta Performance acoplada ao Detector de Onda Variável, do inglês, *High Performance Liquid Chromatography/Variable Wave Detector* HPLC/VWD, para quantificação de PAHs em água. Seebunrueng e colaboradores (2013) analisaram pesticidas organofosforados em água residual utilizando HPLC/UV. Yan e colaboradores (2016) desenvolveram metodologia para detecção de herbicidas em água. Mais atualmente, Parente e colaboradores (2022) utilizaram a técnica de HPLC/DAD para determinação de pesticidas em água superficial de rios. É possível perceber que, embora todos os autores tenham utilizado a técnica de LC para separação, cada um deles utilizou um tipo de detecção diferente, demonstrando um leque de opções além da espectrometria de massas.

Entretanto, a técnica analítica mais empregada para a determinação de SVOCs consiste na cromatografia gasosa em virtude das propriedades físico-químicas dos compostos analisados. Neste caso, a GC também ser acoplada à espectrometria de massas, do inglês *Gas Chromatography - Mass Spectrometry* (GC-MS). A seguir são colocados alguns aspectos da cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas tendo em vista que foi a técnica empregada neste trabalho.

1.4.1. Cromatografia Gasosa (GC)

A separação cromatográfica empregando GC é baseada principalmente em dois fatores. Um deles é o ponto de ebulição dos analitos, e o outro consiste na interação dos analitos com a fase estacionária contida no interior da coluna cromatográfica enquanto são carregados por um gás ultrapuro e inerte, chamado de fase móvel. Desta forma, analitos mais voláteis tendem a eluir em tempos menores e serem detectados primeiro que analitos menos voláteis. Além disso, analitos que apresentem significativas interações com a fase estacionária tendem a permanecer um tempo maior na coluna cromatográfica e serem detectados posteriormente.

Em cromatografia gasosa existem alguns componentes fundamentais do sistema que possuem funções específicas. Dentre eles podem ser citados:

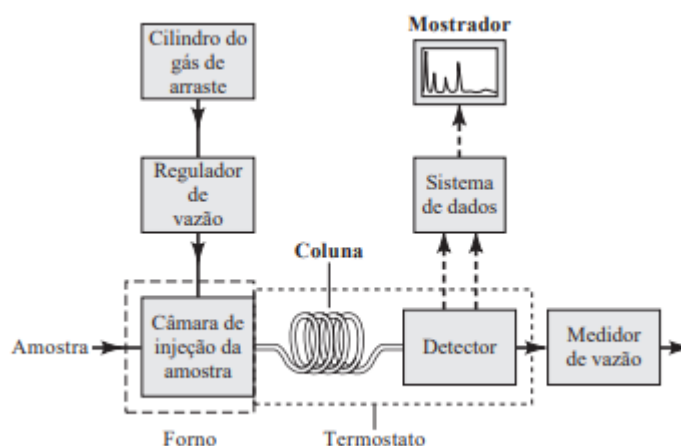
- Cilindros de fase móvel (gás carreador): Fornecem o gás ultrapuro para a realização das análises. Geralmente são empregados hélio, nitrogênio ou hidrogênio.
- Injetor: Apresenta a função da injeção e vaporização da amostra. Cabe ressaltar que em GC a amostra apresenta a obrigatoriedade de ser volatilizável e termicamente estável uma vez que é aquecida geralmente a temperaturas superiores a 250 °C no injetor.
- Coluna: Responsável pela separação da mistura de compostos presentes na amostra.
- Forno cromatográfico: Responsável pelo aquecimento da coluna no decorrer da análise cromatográfica. Neste caso, podem ser empregadas programações de temperatura a qual é aumentada

gradualmente durante a corrida cromatográfica, ou isotermas nas quais a temperatura permanece constante durante toda a análise.

- Detector: Componente que apresenta a capacidade de detectar o conjunto de compostos que está sendo eluído da coluna cromatográfica.
- Sistema de registro e tratamento de dados: Responsável pelo registro dos sinais geralmente através de software específico do instrumento.

Na **Figura 4** está sendo mostrado um esquema de um cromatógrafo gasoso definindo seus principais componentes.

Figura 4 - Esquema de um sistema de Cromatografia Gasosa



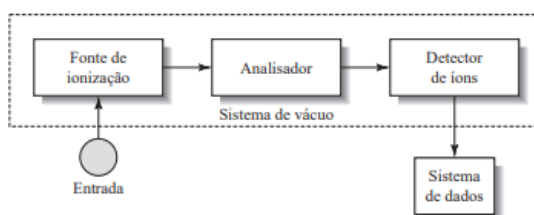
Fonte: SKOOG et al, 2014

Entre os detectores tipicamente empregados em GC, o detector por espectrometria de massas merece grande destaque. Neste caso, os componentes previamente separados na coluna cromatográfica são conduzidos primeiramente para uma fonte de ionização, onde os mesmos são ionizados. As fontes de ionização mais comumente empregadas em GC são as de ionização química (CI) ou ionização por elétrons (EI).

Após a ionização, os íons (fragmentos moleculares) são conduzidos por um sistema de lentes para serem separados pela sua razão de massa/carga (m/z) em analisadores de massa que podem ser de diferentes tipos e complexidades. Neste caso, o analisador do tipo quadrupolo apresenta destaque e é largamente utilizado em instrumentos modernos. Em instrumentos mais sofisticados, os

analisadores de massa podem ser colocados em sequência (*tandem*) para produzir um sistema mais sensível e que permita um maior controle dos fragmentos gerados no processo. Este é o caso do GC-MS/MS onde analisadores de massa são colocados em sequência para permitir metodologias analíticas de maior sensibilidade. Na **Figura 5** consta um esquema de um sistema de detecção por espectrometria de massas contendo apenas um analisador.

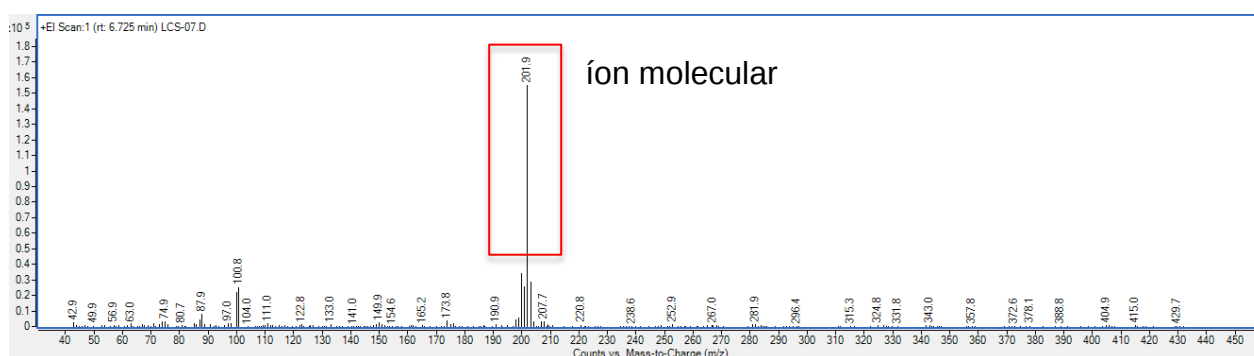
Figura 5 - esquema de um Detector de Espectrometria de Massas



Fonte: SKOOG et al, 2014

Após a separação dos íons segundo a m/z , um detector registra os sinais iônicos gerados ao final do processo o qual é registrado no espectro de massas, que é composto por linhas que representam os fragmentos com suas razões m/z e suas respectivas abundâncias. Pelo espectro de massas é possível informações sobre a estrutura da molécula, a massa molar que é representada pelo pico de maior m/z , chamado de íon molecular (PASSOS, 2024). A **Figura 6** representa o espectro de massas do composto pireno no método desenvolvido pela autora.

Figura 6 - Espectro de massas do composto pireno.



Fonte: autoria própria

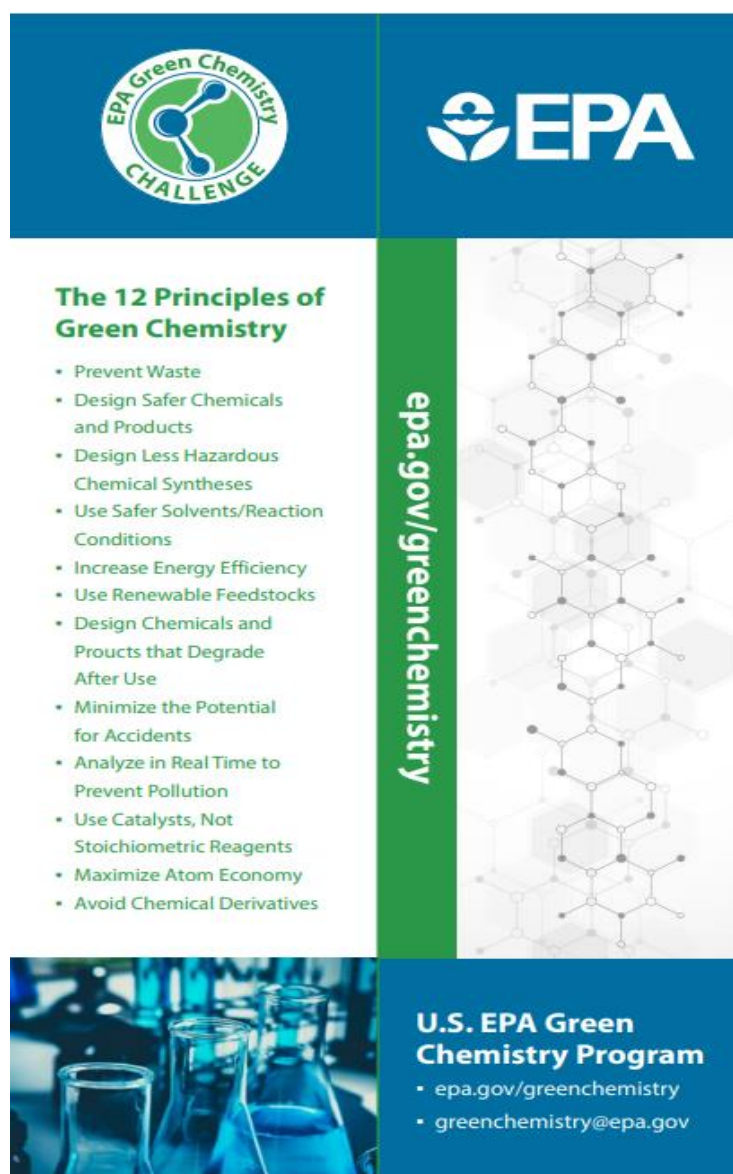
Diversos autores utilizaram a técnica de GC para separação/determinação de compostos orgânicos em amostras ambientais. Razaee e colaboradores

(2006), quando propuseram a DLLME, utilizaram a técnica de GC acoplada ao detector por ionização de chama (FID) para a determinação de PAHs em amostras de águas superficiais. Song e colaboradores (2013) fizeram uso da técnica de GC-MS para determinação de SVOCs e PAHs em água residual. Hou e colaboradores (2019) também utilizaram de GC-MS para a determinação de pesticidas organoclorados e PCBs em amostras de água superficial e de consumo humano.

1.5. Química Verde

O termo química verde, como é conhecido atualmente, foi primeiramente introduzido no ano de 1996 por Anastas e Williamson (1996), no artigo intitulado Química Verde: um ponto de vista, do inglês, *Green Chemistry: an overview*. Em 1998, estes autores publicaram um guia de Química Verde, onde foram reportados os 12 Princípios da Química Verde. Dentre os princípios são listados como objetivos o menor uso de metais pesados, substituição de substâncias químicas perigosas e diminuição do resíduo produzido (LINTHORST, 2009). Tais princípios são utilizados até a atualidade, e estão, inclusive, publicados no site oficial da USEPA, conforme mostra a **Figura 7**.

Figura 7 - os 12 princípios da Química Verde publicados no site oficial da USEPA



Fonte: USEPA

Enquanto a Química Verde como um todo tem focado em processos sintéticos de indústrias químicas e farmacêuticas, nos anos 2000 surge a Química Analítica Verde. Esta passa a enfatizar as práticas laboratoriais mais ecológicas, aumentando os esforços em reduzir o impacto negativo das análises instrumentais ao meio ambiente e aumentar o compromisso dos laboratórios analíticos com a implementação da sustentabilidade (GAŁUSZKA; MIGASZEWSKI; NAMIEŚNIK, 2013).

A Química Analítica Verde também tem os seus princípios, dentre eles estão a redução do uso de solventes tóxicos, redução da quantidade de amostra

necessária para realizar a análise, automatização e miniaturização dos métodos e redução do uso de energia, aumento de segurança para o analista, entre outros. Desta forma, o principal objetivo é incentivar a introdução de métodos analíticos mais ecológicos em rotinas laboratoriais (GAŁUSZKA; MIGASZEWSKI; NAMIEŚNIK, 2013).

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Desenvolvimento de metodologia analítica baseada em técnica de Microextração Dispersiva Líquido-Líquido (DMLLE) para a determinação de Compostos Orgânicos Semivoláteis (SVOC) em amostras de água utilizando GC-MS.

2.2. Objetivos Específicos

- Otimizar os principais fatores que influenciam a extração;
- Validar o método proposto sobre os preceitos da ISO IEC 17025/2017;
- Aplicar o método em cinco matrizes diferentes de água;
- Comparar as características sustentáveis do método proposto com um método oficial utilizado para determinação de SVOCs;

**Assessment of an Analytical Method for the Multi-Analyte Determination of
Semi Volatile Organic Compounds (SVOCs) in Water Samples Using
Dispersive Liquid-Liquid Microextraction and Gas Chromatography-Mass
Spectrometry**

Lauren Ramos da Silva^a, Camila Scheid^a and Josias Merib^{a,b*}

Artigo a ser submetido na revista “Water, Air, & Soil Pollution (Springer)”

^a Programa de Pós-Graduação em Biociências, Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Porto Alegre, RS 90050-170, Brazil.

^b Departamento de Farmacociências, Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Porto Alegre, RS 90050-170, Brazil.

Corresponding Author

E-mail address: josias@ufcspa.edu.br (J. Merib)

Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre

245, Sarmiento Leite St.

Porto Alegre RS, 90050-170

Phone: +55 51 33038883

Abstract

Investigation of water pollution is extremely important due to the numerous contaminants that can migrate to this matrix. Semi-volatile organic compounds (SVOCs) such as polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), organochlorine pesticides (OCPs), phthalate esters (PAEs), pharmaceuticals and others represent a major issue for both the environment and human health. In this study, dispersive liquid-liquid microextraction (DLLME) followed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) was developed, optimized, and validated for the simultaneous and multiclass determination of forty-seven SVOCs in water samples. In this regard, a more sustainable alternative compared to official methodologies was developed and employed for the analysis of tap water, sea water, treated water, underground water and pond water. The experimental workflow was partially optimized using a Doehlert design, and 500 μL of dichloromethane (extraction solvent) was adopted to analyze 15 mL of water sample. Additionally, 500 μL of methanol (disperser solvent), 15 s of vortex, and 2 min of centrifugation were also adopted for the sample preparation methodology. Using this condition, satisfactory analytical parameters of merit were achieved with coefficients of determination (r^2) higher than 0.9635, limits of detection (LOD) from 3.0 to 6.0 $\mu\text{g L}^{-1}$, limits of quantification (LOQ) from 10.0 to 20.0 $\mu\text{g L}^{-1}$, intraday precision from 1.66 to 29.50%, and interday precision from 9.32 to 23.54%. Furthermore, the greenness of this methodology was assessed and compared to USEPA Method 3510C using the recently proposed sample preparation metric of sustainability (SPMS). The methodology developed in this study was significantly more sustainable than the USEPA Method 3510C, and it consists of a rapid, reliable and accurate alternative to be used also for routine analysis of SVOCs.

Keywords: sample preparation, semi volatile organic compounds, microextraction, DLLME.

1. Introduction

The development of analytical methodologies for the determination of environmental contaminants is a topic of great concern due to the large number of chemicals used for controlling pests in different crops. Therefore, increasingly interest has been devoted to water supplies due to a real possibility of contamination. The most common organic pollutants are hydrocarbons, pesticides, plasticizers, and pharmaceuticals (González-Gaya et al, 2021). Specifically, semi volatile organic compounds (SVOC) consist of a multiclass group which includes polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), polychlorinated biphenyls (PCBs), organochlorine pesticides (OCPs), phthalate esters (PAEs) and other low molecular weight compounds. (Li et al, 2018).

PAHs exhibit low water solubility, low vapor pressure, and high melting and boiling points. Due to these aspects, these compounds are considered persistent organic pollutants (POPs) (Patel et al, 2020). The pollution sources can be anthropogenic activities mainly related to the incomplete combustion of fossil fuels (Scheid et al, 2023), or natural events (Mojiri et al, 2019). Anthropogenic activities include vehicle emissions, agricultural and domestic activities; on the other hand, volcanic eruptions and natural forest fires can be mentioned as natural sources of PAHs contamination (Patel et al, 2020). PAHs consist of the largest group of SVOCs, due to their environmental persistence, carcinogenicity and mutagenicity they are highlighted as a threat to the environment and human health by the United States Environmental Protection Agency (USEPA) (Liu et al, 2019).

PCBs are synthetic organic chlorinated compounds comprised of a biphenyl backbone in which 1 to 10 chlorine atoms are bonded. These compounds are largely used in industrial products such as lubricants, electrical and mechanical components (Maucourt et al, 2024). According to the Stockholm Convention (2001), PCBs are also considered POPs with well-known risks to human health. Chronical effects can be associated with endocrine dysfunction, neurological and cardiovascular issues, obesity, among others (Kaw and Kannan, 2017). Some physico-chemical properties also make these compounds dangerous for several ecosystems exhibiting environmental persistence, and resistance to chemical and thermal degradation (Rivera-Perez, 2021).

Another class of hazardous compounds consists of organochlorine pesticides. These compounds were largely used in the 1950s and 1960s to eliminate pests in a wide variety of crops around the world (Huang, 2021). OCPs generally exhibit high toxicity, carcinogenicity, high lipophilicity, and persistence in the environment with potential for bioaccumulation and biomagnification. Several compounds of this class have been banned in many countries; however, residuals of these pesticides have been found in numerous matrices including water samples (Merib, Nardini and Carasek, 2014).

Phthalate esters have been largely used in industrial activities involving polymeric materials. PAEs have been employed as plasticizers and they can be found in many products such as nail polish and hairspray (Alvarez-Rivera et al., 2013). Additionally, these compounds exhibit potential to improve elasticity and performance of some materials based on polyethylene (PE), polyethylene terephthalate (PET), and polyvinyl chloride (PVC) (Kashfi et al, 2023). On the other hand, phthalate esters are commonly associated with endocrine disruption, reproductive toxicity and carcinogenicity (Kudlak et al., 2015; Prata et al., 2020).

Importantly, monitoring SVOCs in water supplies is extremely necessary due to the numerous health issues associated with the ingestion of these compounds. In general, instrumental techniques such as gas chromatography (GC) and liquid chromatography (LC) are employed for the determination of SVOCs. However, these compounds are typically found in low concentrations and a sample preparation step is generally required. In this regard, extraction techniques have been developed and improved to permit efficient isolation and determination of the analytes prior to instrumental analysis (Merib). Classical techniques including liquid-liquid extraction (LLE) and solid-phase extraction are widely employed. In this case, official methodologies based on these techniques have been adopted in many laboratories. However, most of these methods require large amount of sample and solvents.

In order to circumvent these limitations, analytical workflows based on microextractions have been proposed. In these methodologies, faster, low solvent consumption, and sustainable methodologies can be achieved. Therefore, important configurations of solid-phase microextraction (SPME) and liquid phase microextraction (LPME) were proposed. (Moreira et al, 2014). In particular, dispersive liquid-liquid microextraction (DLLME) developed by Rezaee et al in

2006 is worth to be highlighted (Rezaee et al, 2006). DLLME consists of a sample preparation technique based on a ternary mixture of solvents comprised of an extraction solvent, a disperser solvent, and aqueous sample. In this case, the disperser solvent is miscible with both the aqueous sample and the extraction solvent. On the other hand, the extraction solvent is not miscible with the aqueous sample. During the DLLME procedure, a mixture containing the extraction and disperser solvents is introduced into the aqueous sample forming a cloudy solution of high surface area. Therefore, the equilibrium is rapidly achieved providing rapid and efficient extractions. Afterwards, a centrifugation step is generally required for the phase separation and the extraction solvent is recovered prior to the analysis. The aim of this study was to propose a more environmentally friendly analytical methodology than those official methods typically employed for the extraction and determination of multiple SVOCs in water samples. Therefore, a DLLME-based approach was developed, optimized and evaluated for the simultaneous determination of 47 SVOCs that can be found in environmental water matrices. In this regard, the greenness of the analytical methodology was also determined through sample preparation metric of sustainability (SPMS) and compared with the results obtained with the official methodology employed for this purpose (USEPA Method 3510C).

2. Experimental

2.1. Reagents and Materials

Analytical standards of 1,3-dichlorophenol (1000 mg/L), 1,2,4,5-tetrachlorobenzene (1000 mg/L), 1,2,3,4-tetrachlorobenzene (1000 mg/L), 1,2,3,5-tetrachlorobenzene (1000 mg/L), 2,3,4,5-tetrachlorobenzene (1000 mg/L), 76-big-mix (1000 mg/L) and CLP Semi-Volatile Internal Standard (4000 mg/L) were all obtained from Absolute Standard (USA, Hamden, CT). EPA 8270 Surrogate Standard (4000 mg/L) was obtained from Sigma-Aldrich, (USA, St. Louis, MO). Dichloromethane and methanol from Merck (Darmstadt, Germany). All solutions were stored at -2 °C. Water was purified using a Milli-Q purification system from Millipore (Bedford, USA).

2.2. Instrumental

Chromatographic analysis was performed using a GC-MS 7820 gas chromatograph coupled to mass spectrometry from Agilent (USA, Santa Clara, CA), equipped with an autosampler PAL3. Chromatographic separation was carried out in a HP5-MS Ultra Inert column (30 m $\times$ 0.25 mm $\times$ 0.25 μ m film thickness). Ultrapure helium at constant flow of 1.2 mL min⁻¹ was used as carrier gas. The injection temperature was set at 250 °C and the initial oven temperature was set at 40 °C (hold for 1 min); increased to 100 °C at a rate of 15 °C min⁻¹; increased to 210 °C at a rate 14 °C min⁻¹ (hold for 1 min) and increased to 320 °C at a rate of 9 °C min⁻¹ (hold for 1 min).

The compounds were separated within approximately 27 min of analysis. Automated injection was performed using 1 μ L and splitless mode. The mass spectrometer was operated in electron ionization (EI) mode at 70 eV. The ion source and interface temperatures were set at 280 °C. The analytes were quantified using selected ion monitoring mode (SIM) with the m/z ratio of highest intensity. Classification, retention times, some physicochemical properties of the analytes, and the m/z ratios monitored for identification and quantification are shown in Table S1 of the Supplementary Material.

2.3. Multivariate optimization of the extraction conditions

This evaluation involved extractions from blank water samples spiked with 100 μ g L⁻¹ of each analyte and for all extractions disperser solvent volume was set at 500 μ L of methanol, vortex time at 15 s, centrifugation time of 2 min (1500 rpm). In this optimization, nine experiments (including a triplicate in the central point) were performed according to a Doehlert design, in which sample volume was varied in three levels (from 10 to 20 mL), and extraction solvent volume (dichloromethane) was varied in five levels (from 250 to 1000 μ L). Dichloromethane (extraction) and methanol (disperser) were employed because they exhibited better performance than other solvents previously examined.

The sum of the chromatographic peak areas of the analytes was considered as response to create a response surface which allowed for setting of the optimized experimental conditions for this study. The analytical data was submitted to statistical treatment using Statsoft Statistica 10 (Statsoft, USA) and Microsoft Excel 2016 (Microsoft, USA).

2.4. Method validation and analysis of real samples

The validation protocol was established to ensure reliability and to evaluate the efficiency of the method according to ISO 17025/2017. Therefore, the analytical figures of merit were determined by internal calibration curves of each compound with analyzes performed in triplicate. The coefficients of determination (r^2) were calculated based on the calibration curves which were tested for homoscedasticity.

Intraday and intermediate precision, based on relative standard deviation (RSD), were evaluated through three replicates of spiked water samples at three concentration levels. In addition, relative recoveries were assessed to determine the method accuracy. Limit of quantification (LOQ) was adopted as the first concentration of the linear range, and limit of detection (LOD) was obtained by dividing LOQ by 3.3. Limit of quantification (LOQ) for each analyte was experimentally determined through extractions in triplicate, with relative standard deviations $\leq 20\%$ being considered satisfactory.

The method proposed in this study was examined in five types of aqueous samples including tap water, sea water, treated water, underground water and pond water. One sample obtained from monitoring wells in Canoas (Brazil) was analyzed to evaluate the applicability of the method developed. All samples were collected at Rio Grande do Sul state, Brazil. Samples were refrigerated at $<6\text{ }^{\circ}\text{C}$ until the analysis that was performed withing 7 after the collection. Water samples were collected in 40 mL amber vials with a whole cap and a polytetrafluoroethylene (PTFE) septum, with no addition of preserving agents.

2.5 Greenness evaluation

An important feature related to analytical methodologies is the evaluation of how green an experimental workflow is. In this regard, some metrics have been established to quantify the sustainable aspects of analytical protocols. In 2023, a metric used exclusively for evaluating the sustainability related to the sample preparation step was proposed by González-Martín et al (González-Martín et al, 2023) termed sample preparation metric of sustainability (SPMS). This metric is particularly interesting because it provides a more clear differentiation among varied sample preparation techniques. Additionally, this strategy is capable of measuring the greenness of different experimental workflows even with slight

differences. Therefore, SPMS strategy was adopted to estimate the greenness of the methodology proposed in this study compared with an USEPA official methodology used for SVOCs determination based on LLE which is typically employed in routine laboratories (USEPA Method 3510C).

3. Results and Discussion

3.1. Optimization through a Doehlert design

A multivariate optimization based on Doehlert design involving extraction solvent volume and sample volume was employed to achieve the best sample preparation condition. The other variables (centrifuge time, and disperser solvent volume) were previously evaluated and did not exhibit influence on the overall extraction response. The result of this optimization is shown in **Fig 1**. A statistical model exhibiting $r^2 = 0.9757$ was obtained which indicated a satisfactory and significant model. Based on the response surface, it is possible to conclude that the combination of 15 mL of water sample and 500 μ L of dichloromethane provided the best results. Therefore, these conditions were chosen for further experiments.

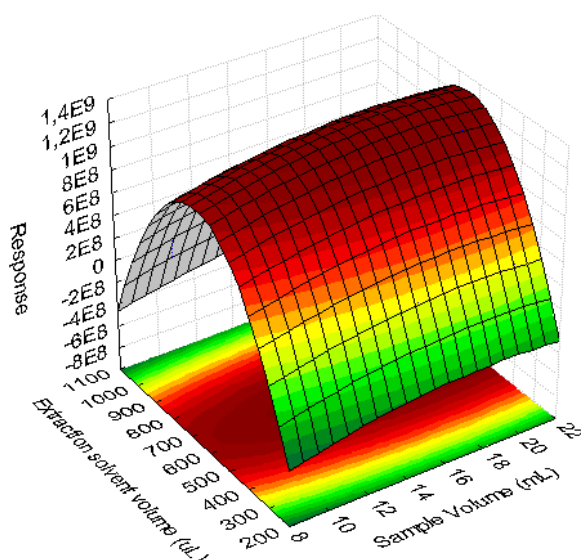


Figure 1. Response surface obtained from the Doehlert design for the optimization of sample volume and extraction solvent amount.

3.2. Experimental workflow for the determination of SVOC in water using DLLME

A general overview of the proposed analytical methodology is shown in **Fig. 2**. For the extraction procedure, 15 mL of water sample was added in a glass conic tube. Then, a solution containing 500 μL of dichloromethane (extraction solvent) and 500 μL of methanol (disperser solvent) was injected with a microsyringe to form a cloudy solution. Afterward, the sample was vortexed for 15 s and centrifuged for 2 min (1500 rpm). The organic phase was removed and transferred to a vial for GC-MS analysis.

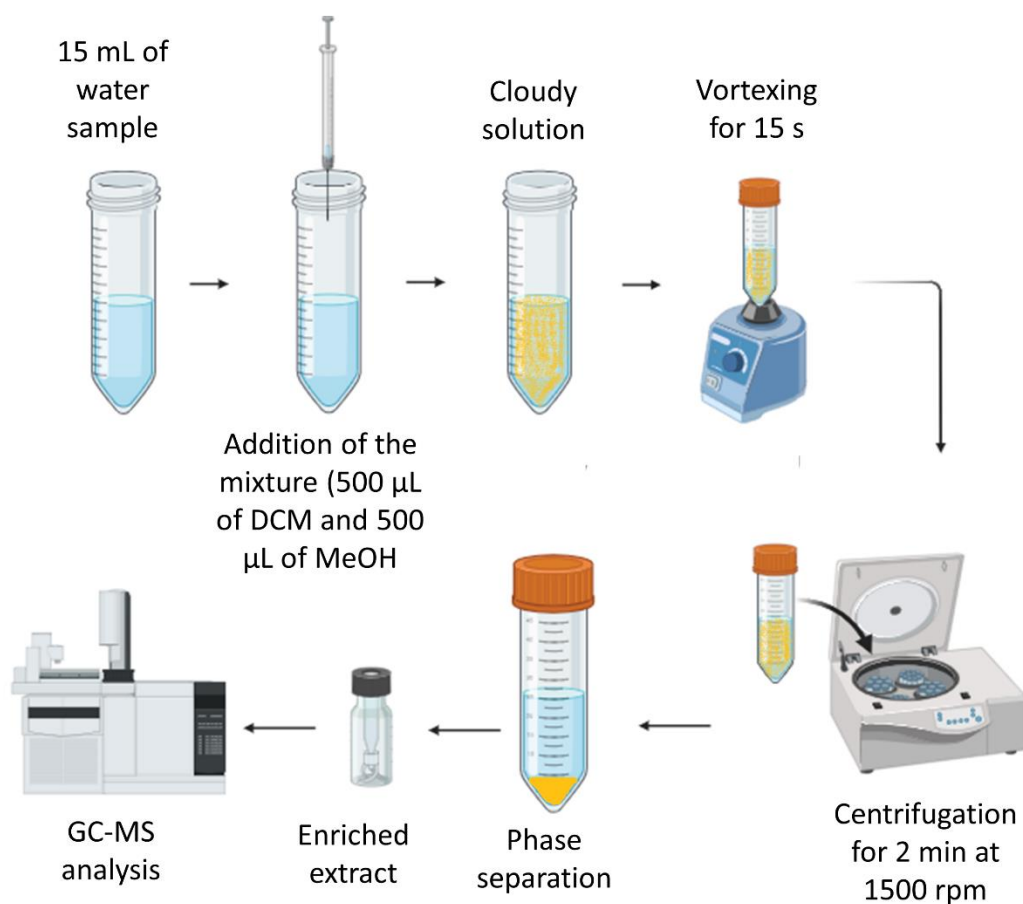


Figure 2. Scheme of the experimental workflow proposed in this study.

3.3. Determination of the analytical parameters of merit and analysis of real samples

After the optimization, the experimental conditions were established, and the validation was performed according to ISO 17025/2017. The analytical figures of merit obtained employing the optimized conditions are shown in **Table 1**.

Table 1. Limits of detection and quantification, linear range, r^2 and linear equation for the analytes.

Analyte	LOD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LOQ ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Linear range ($\mu\text{g L}^{-1}$)	r^2	Linear equation
1-methylnaphthalene + 2-methylnaphthalene	6.0	20	20 - 1000	0.9946	$y = 23.0987 x + 1.4061$
1,2-dichlorobenzene	3.0	10	10 - 500	0.9924	$y = 8.0900 x + 0.2609$
1,2,3,4- tetrachlorobenzene + 1,2,3,5- tetrachlorobenzene	6.0	20	20 - 1000	0.9971	$y = 45.4572 x + 0.6983$
1,2,4,5- tetrachlorobenzene	3.0	10	10 - 500	0.9961	$y = 25.4320 x + 0.6215$
1,3-dichlorobenzene	3.0	10	10 - 500	0.9963	$y = 16.9390 x + 0.3629$
1,4-dichlorobenzene	3.0	10	10 - 500	0.9968	$y = 24.9894 x + 0.5282$
2-chloro naphthalene	3.0	10	10 - 500	0.9958	$y = 44.6785 x + 1.1777$
2-chlorophenol	3.0	10	10 - 500	0.9819	$y = 8.6062 x + 0.2521$
2-nitroaniline + 4- nitroaniline	6.0	20	20 - 1000	0.9780	$y = 0.9142 x + 0.0712$
2,4-dimethylphenol	3.0	10	10 - 500	0.9824	$y = 8.1403 x + 0.2470$
2,4-dinitrotoluene + 2,6- dinitrotoluene	6.0	20	20 - 200	0.9959	$y = 1.3082 x + 0.0749$
4-bromophenyl phenyl ether	3.0	10	10 - 500	0.9972	$y = 6.2641 x + 0.1061$
4-chloro-3-methylphenol	3.0	10	10 - 500	0.9843	$y = 7.9852 x + 0.1790$
4-chlorophenyl phenyl ether	3.0	10	10 - 500	0.9902	$y = 23.2340 x + 1.0562$
Acenaphthene	3.0	10	10 - 500	0.9957	$y = 42.9145 x + 1.2053$
Acenaphthylene	3.0	10	10 - 500	0.9965	$y = 94.8549 x + 2.3652$
Aniline	3.0	10	10 - 500	0.9772	$y = 6.3614 x + 0.2490$
Anthracene	3.0	10	10 - 500	0.9839	$y = 54.1817 x + 3.0583$
Azobenzene	3.0	10	10 - 500	0.9941	$y = 2.9722 x + 0.1110$
Benzyl alcohol	3.0	10	10 - 500	0.9714	$y = 3.9465 x + 0.1411$
Benzyl butyl phthalate	3.0	10	10 - 500	0.9959	$y = 13.0967 x + 0.1317$

Benzo(a)anthracene	3.0	10	10 - 500	0.9975	$y = 63.7303 x + 0.7559$
Benzo(a)pyrene	3.0	10	10 - 500	0.9971	$y = 73.8142 x + 0.5142$
Benzo(b)fluoranthene	3.0	10	10 - 500	0.9978	$y = 81.5038 x + 2.2790$
Benzo(g,h,i)perylene	3.0	10	10 - 500	0.9977	$y = 76.6590 x + 0.2956$
Benzo(k)fluoranthene	3.0	10	10 - 500	0.9975	$y = 82.1262 x + 3.0711$
Bis(2-chloro-1-methylethyl)ether	3.0	10	10 - 500	0.9963	$y = 15.0796 x + 0.3955$
Bis(2-chloroethoxy)methane	3.0	10	10 - 500	0.9957	$y = 16.3051 x + 0.3790$
Bis(2-chloroethyl)ether	3.0	10	10 - 500	0.9772	$y = 6.3613 x + 0.2490$
Carbazole	3.0	10	10 - 500	0.9922	$y = 23.8763 x + 0.9096$
Chrysene	3.0	10	10 - 500	0.9971	$y = 66.7089 x + 2.5207$
Di-n-butyl phthalate	3.0	10	10 - 500	0.9635	$y = 54.2601 x + 4.0617$
Dibenzo(a,h)anthracene	3.0	10	10 - 500	0.9970	$y = 51.5270 x - 1.4158$
Dibenzofuran	3.0	10	10 - 500	0.9900	$y = 21.0932 x + 0.8786$
Diethyl phthalate	3.0	10	10 - 500	0.9862	$y = 2.0336 x + 41.1956$
Dimethyl phthalate	3.0	10	10 - 500	0.9969	$y = 47.3309 x + 1.5048$
Fluoranthene	3.0	10	10 - 500	0.9943	$y = 30.3375 x + 0.8585$
Fluorene	3.0	10	10 - 500	0.9751	$y = 41.4292 x + 3.0968$
Hexachlorobenzene	3.0	10	10 - 500	0.9970	$y = 7.6328 x + 0.1239$
Hexachlorobutadiene	3.0	10	10 - 500	0.9976	$y = 13.0897 x + 0.1505$
Indene(1,2,3-c,d)pyrene	3.0	10	10 - 500	0.9997	$y = 62.8491 x + 0.1505$
m-cresol + p-cresol	6.0	20	20 - 1000	0.9839	$y = 3.9808 x + 0.1861$
Naphthalene	3.0	10	10 - 500	0.9919	$y = 54.7376 x + 2.2714$
o-cresol (2-methylphenol)	3.0	10	10 - 500	0.9826	$y = 8.8519 x + 0.2648$
Phenanthrene	3.0	10	10 - 500	0.9779	$y = 53.3934 x + 3.3876$
Phenol	3.0	10	10 - 500	0.9708	$y = 1.5757 x + 0.0666$
Pyrene	3.0	10	10 - 500	0.9943	$y = 31.5517 x + 0.9271$

The coefficients of determination (r^2) of the calibration curves were higher than 0.9635, which indicates satisfactory linearity. The analytes have presented heteroscedastic calibration curves, which may be explained by the wide range of concentration values. Therefore, linear least squares linear regression methods have resulted in large errors in the calculation of concentrations, especially at lower values. By applying weighted least squares linear regression, the resulting weighting factors were of $1/x$ for all analytes. LOD values obtained for the analytes varied from 3.0 to 6.0 $\mu\text{g L}^{-1}$ and LOQ varied 10.0 to 20.0 $\mu\text{g L}^{-1}$. According to **Table 2**, the accuracy based on the relative recoveries ranged from 84.63 to 124.45%. The intraday precision ranged from 1.66 to 29.50% and the interday precision from 9.32 to 23.54%.

Table 2. Relative recoveries and precisions for the target compounds in water samples.

Analyte	Spiked concentration ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Relative Recovery (%) n=3	Precision (RSD, %)	
			Intraday (n=3)	Interday (n=9)
1-methylnaphthalene + 2-methylnaphthalene	20	101.20	6.80	20.80
	200		25.27	
	1000		21.64	
1,2-dichlorobenzene	10	108.45	7.70	19.13
	100		15.17	
	500		17.29	
1,2,3,4-tetrachlorobenzene + 1,2,3,5-tetrachlorobenzene	20	98.71	5.39	21.79
	200		25.57	
	1000		20.28	
1,2,4,5-tetrachlorobenzene	10	114.17	5.22	19.51
	100		23.19	
	500		19.65	
1,3-dichlorobenzene	10	109.74	8.15	23.54
	100		22.04	
	500		16.09	
1,4-dichlorobenzene	10	102.22	7.30	23.42
	100		21.55	
	500		15.42	
2-chloro naphthalene	10	105.12	4.06	19.49
	100		23.50	

	500		20.37	
2-chlorophenol	10		9.32	
	100	98.90	7.25	17.10
	500		13.99	
2-nitroaniline + 4-nitroaniline	20		13.76	
	200	107.31	24.18	19.15
	1000		18.88	
2,4-dimethylphenol	10		11.09	
	100	119.95	14.17	14.94
	500		8.66	
2,4-dinitrotoluene + 2,6-dinitrotoluene	20		5.97	
	200	119.28	5.98	14.94
	1000		23.21	
4-bromophenyl phenyl ether	10		12.18	
	100	101.47	10.95	13.52
	500		3.93	
4-chloro-3-methylphenol	10		5.56	
	100	98.07	23.25	18.71
	500		13.29	
4-chlorophenyl phenyl ether	10		16.27	
	100	103.03	21.29	17.00
	500		12.64	
Acenaphthene	10		11.99	
	100	105.87	23.31	19.37
	500		18.99	
Acenaphthylene	10		2.17	
	100	113.48	8.08	10.60
	500		10.37	
Aniline	10		5.11	
	100	122.10	12.53	19.33
	500		13.60	
Anthracene	10		2.20	
	100	124.45	8.58	11.52
	500		3.03	
Azobenzene	10		8.95	
	100	93.00	20.46	16.15
	500		11.23	
Benzyl alcohol	10		8.70	
	100	96.87	21.20	20.60
	500		23.99	
Benzyl butyl phthalate	10		10.13	
	100	97.84	21.47	22.48
	500		17.94	
Benzo(a)anthracene	10		12.35	
	100	109.21	5.91	8.92
	500		5.92	
Benzo(a)pyrene	10		16.19	
	100	106.66	6.16	9.39
	500		5.94	
Benzo(b)fluoranthene	10		29.50	

	100	111.91	5.72	12.39
	500		6.19	
Benzo(g,h,i)perylene	10		12.89	
	100	95.60	6.73	12.35
	500		6.02	
Benzo(k)fluoranthene	10		20.42	
	100	117.36	5.72	10.53
	500		6.19	
Bis(2-chloro-1-methylethyl)ether	10		15.48	
	100	84.63	14.92	14.22
	500		24.93	
Bis(2-chloroethoxy)methane	10		1.47	
	100	112.68	6.96	13.91
	500		7.55	
Bis(2-chloroethyl)ether	10		4.53	
	100	122.10	13.57	19.69
	500		14.71	
Carbazole	10		2.05	
	100	122.28	7.96	12.07
	500		2.96	
Chrysene	10		19.91	
	100	116.04	3.77	9.36
	500		6.00	
Di-n-butyl phthalate	10		16.00	
	100	108.86	26.30	19.93
	500		10.31	
Dibenzo(a,h)anthracene	10		11.80	
	100	73.89	14.14	18.13
	500		4.66	
Dibenzofuran	10		7.29	
	100	104.98	24.19	19.45
	500		16.30	
Diethyl phthalate	10		4.27	
	100	100.04	22.73	17.93
	500		12.97	
Dimethyl phthalate	10		4.77	
	100	107.41	22.86	17.85
	500		20.84	
Fluoranthene	10		18.04	
	100	103.02	24.19	17.99
	500		8.77	
Fluorene	10		17.98	
	100	104.85	23.14	18.15
	500		12.61	
Hexachlorobenzene	10		8.79	
	100	102.92	9.01	13.13
	500		3.38	
Hexachlorobutadiene	10		8.53	
	100	105.43	11.07	13.04
	500		5.00	

Indene(1,2,3-c,d)pyrene	10		8.93	
	100	110.61	10.58	13.47
	500		2.33	
m-cresol + p-cresol	20		10.18	
	200	98.07	12.21	16.12
	1000		13.29	
Naphthalene	10		1.66	
	100	119.02	8.06	9.32
	500		4.54	
o-cresol(2-methylphenol)	10		11.67	
	100	121.56	11.29	13.92
	500		8.35	
Phenanthrene	10		2.24	
	100	123.93	8.74	11.89
	500		3.29	
Phenol	10		8.97	
	100	117.91	10.81	18.44
	500		15.62	
Pyrene	10		18.13	
	100	103.34	28.86	22.32
	500		14.38	

Fig. 3 shows a chromatogram obtained by GC-MS from a water sample spiked with analytes at concentration of $100 \mu\text{g L}^{-1}$ using the DLLME workflow proposed in this study. Retention times and information related to the chemical structure of the analytes are shown in Supplementary Material.

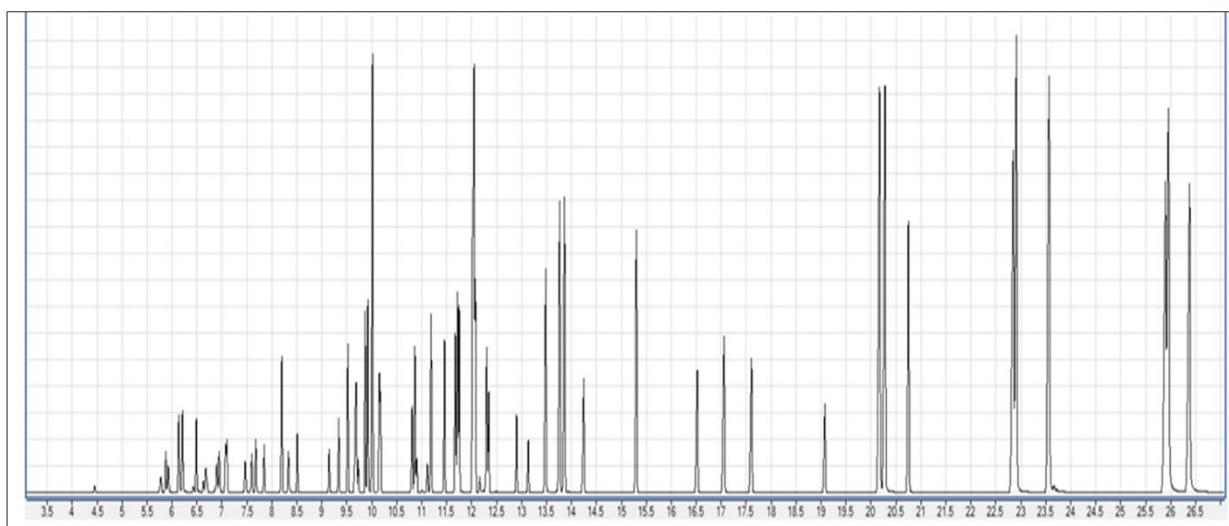


Figure 3. Chromatogram obtained in SCAN mode containing the analytes at $100 \mu\text{g L}^{-1}$ after the application of the DLLME workflow proposed in this study.

After the optimization and validation steps, the method proposed was applied for the analysis of a water sample from monitoring wells at Canoas – Rio Grande do Sul, Brazil. The sample exhibited results lower than LOQ for all analytes. The analytical features of the method developed in this work were also compared with other methods reported in the literature for the determination of SVOCs in water samples as shown in **Table 3**. According to this table, despite higher LOQs obtained with this study, this methodology permitted a rapid experimental workflow (completed within 3 min). Additionally, the method allowed for the simultaneous determination of 47 analytes in a single chromatographic run which is particularly interesting for environmental analysis that generally requires a multi-analyte screening/determination.

Table 3. Comparison of the analytical features obtained with this study with other reported in the literature for determination of SVOCs in water samples employing DLLME.

Instrumentation	Number of analytes	Sample volume (mL)	Sample preparation time (min)	Organic solvent volume (μL)	LOQ (μg L ⁻¹)	Ref.
GC-μECD	14	5	6	1195 (extraction + disperser)	0.53 - 7.16	Hou et al, 2019
GC-MS	54	10	3	1150 (extraction + disperser)	0.025 – 5.0	Peñalver et al, 2022
HPLC-UV	4	10	0.3	1110 (extraction + disperser)	0.6- 3.5	Seebunrueng et al, 2013
GC-MS	7	5	1.5	100 (did not require disperser)	0.70 – 8.22	Duarte et al, 2016
GC-MS	16	5	6	1050 (extraction + disperser)	0.01 – 0.15	Guo et al, 2011
GC-MS	15	5	7	765 (extraction + disperser)	-	Song et al, 2013
GC-MS	47	15	< 3	1000 (extraction + disperser)	10.0 – 20.0	This study

3.4. Sustainable aspects of the sample preparation methodology

In this step, the sample preparation metric of sustainability (SPMS) was employed in order to evaluate the greenness of this study in comparison to an official methodology (USEPA Method 3510C) used for the determination of SVOCs. The results are based on six aspects including sample amount, extractant information, procedure information, energy consumption, total waste, and reusability of extractant. After the addition of specific information for each aspect, a global score is generated from 1 to 10. High global scores indicate that the methodology is green and sustainable. Low values indicate that the methodology exhibit some issues regarding sustainability. In this regard, a graph with different colors is generated associated with the global score for each methodology. **Fig 4 (A and B)** shows the sustainable aspects of both methodologies using the SPMS metric.

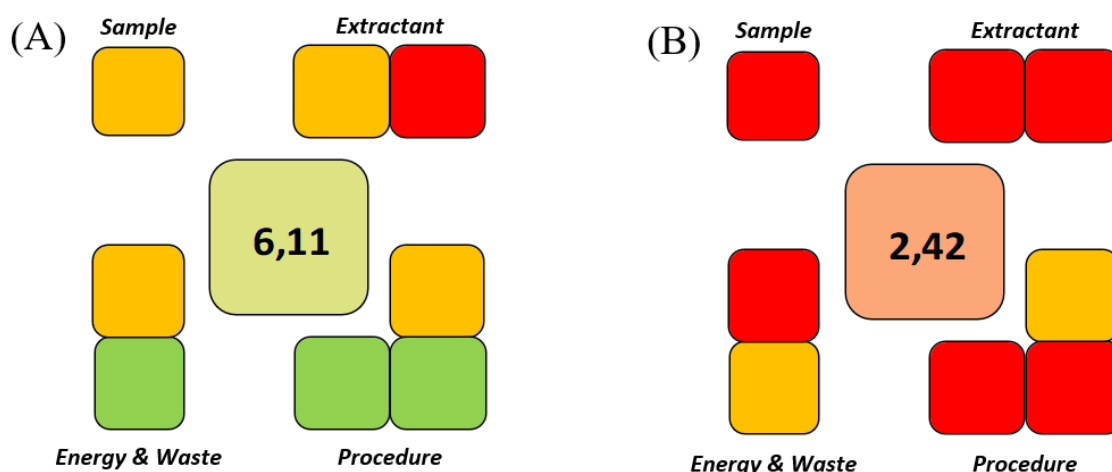


Figure 4. Evaluation of the greenness of (A) DLLME procedure proposed in this study and B) USEPA Method 3510C for the determination of SVOCs.

According to Fig 3, it is clear the advantages of the DLLME methodology proposed in this study compared to USEPA Method 3510C in terms of sustainability. A significant higher global score was obtained for the DLLME procedure (6.11) compared to the official USEPA Method 3510C methodology (2.42) for the determination of SVOCs. Positive aspects regarding the Procedure and Energy and Waste should be highlighted in this proposal. However, even obtaining higher global score, the methodology proposed in this study also

exhibited some drawbacks mainly related to the extraction solvent used (dichloromethane) that is not natural/biodegradable.

4. Conclusion

In this study, an analytical method based on DLLME followed by GC-MS was successfully developed, optimized, and validated for the simultaneous determination of 47 SVOCs from water samples. This sample preparation methodology allowed for rapid extractions and accurate determinations, which is of particular interest for routine analysis. The chromatographic analysis also exhibited satisfactory performance since 47 analytes were analyzed within approximately 27 min. Additionally, the organic solvent consumption was drastically reduced compared to an official methodology used for the analysis of SVOCs. The greenness was assessed through SPMS metric, and the methodology proposed in this study proved to be more sustainable than an official methodology. On the other hand, some limitations regarding the toxic nature of the extraction solvent (dichloromethane), and difficulties for automating the DLLME approach can also be pointed out.

Acknowledgements

Authors are grateful to the Brazilian governmental agency Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), and Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre for the financial support that made this research possible. Additionally, authors are also grateful to Finkler Ambiental Company located at Canoas – Rio Grande do Sul for providing the analytical instrument and facilities used for the development of this study.

Conflict of interest

Authors declare no conflict of interest.

Supplementary Material

Assessment of an analytical method for the multi-analyte determination of semi volatile organic compounds (SVOC) in water samples using dispersive liquid-liquid microextraction and gas chromatography-mass spectrometry

Lauren Ramos da Silva^a, Camila Scheid^a and Josias Merib^{a,b*}

^a Programa de Pós-Graduação em Biociências, Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Porto Alegre, RS 90050-170, Brazil.

^b Departamento de Farmacociências, Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Porto Alegre, RS 90050-170, Brazil.

Corresponding Author

E-mail address: josias@ufcspa.edu.br (J. Merib)

Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre

245, Sarmiento Leite St.

Porto Alegre RS, 90050-170

Phone: +55 51 33038883

Table S1. Classification, molecular weight, retention time, log P and MS information for the target analytes.

Analyte	Classification	Molecular weight (g mol ⁻¹)	Retention time (min)	logP	Quantification ion (m/z)	Identification ions (m/z)
Phenol	NCP	94.11	5.763	1.5	94	65, 66
Aniline	NCB	93.13	5.866	0.9	93	66, 65
Bis(2-chloroethyl)ether	OT	143.01	5.866	1.3	128	64, 130
2-chlorophenol	CF	128.55	5.915	2.1	128	64, 130
1,2-dichlorobenzene	CB	147.00	6.115	3.4	146	148, 111
1,4-dichlorobenzene-d4 - IS	CB	151.02	6.117	3.4	150	152, 115
1,4-dichlorobenzene	CB	147.00	6.471	3.4	146	148, 111
1,3-dichlorobenzene	CB	147.00	6.198	3.4	146	148, 111
Benzyl alcohol	NCB	108.14	6.617	1.1	108	79, 77
Bis(2-chloro-1-methylethyl)ether	OT	171.06	6.669	2.1	45	77, 121
Nitrobenzene-d5 - SURR	OT	128.14	7.052	1.9	82	54, 52
o-cresol (2-methylphenol)	NCP	108.14	7.665	2.0	107	108, 77
2,4-dimethylphenol	NCP	122.16	7.668	2.3	122	107, 121
Bis(2-chloroethoxy)methane	OT	173.03	7.83	1.2	93	95, 123
Naphthalene-d8 - IS	PAH	136.22	8.149	3.3	136	68
Naphthalene	PAH	128.17	8.149	3.3	128	127, 126
Hexachlorobutadiene	OT	260.8	8.500	4.8	225	223, 227
m-cresol + p-cresol	NCP	108.14	9.139	2.0	107	108, 107
4-chloro-3-methylphenol	CP	142.58	9.139	3.1	107	144, 142
1-methylnaphthalene + 2-methylnaphthalene	PAH	142.20	9.325	3.9	142	141
1,2,3,4-	CB	215.90	9.667	4.6	216	214, 218

tetrachlorobenzene + 1,2,3,5- tetrachlorobenzene						
2-fluorobiphenol - SURR	OT	112.10	10.000	1.7	172	171, 170
2-chloro naphthalene	CB	162.61	10.132	4.1	162	127, 164
1,2,4,5- tetrachlorobenzene	CB	215.9	10.160	4.6	216	214, 179
Dimethyl phthalate	PAEs	194.18	10.778	1.6	163	194, 164
Acenaphthylene	PAH	152.19	10.845	3.7	152	151, 153
2,4-dinitrotoluene + 2,6- dinitrotoluene	OT	182.13	10.877	2.0	165	63, 89
2-nitroaniline + 4- nitroaniline	NCB	138.12	11.094	1.9	65	92, 138, 108
Acenaphthene-d10 - IS	PAH	164.27	11.116	3.9	164	16
Acenaphthene	PAH	154.21	11.167	3.9	154	153, 152
Dibenzofuran	PAEs	168.19	11.439	4.1	168	139
Diethyl phthalate	PAEs	222.24	11.999	2.5	149	177, 150
Fluorene	PAH	166.22	12.028	4.2	166	165, 167
4-chlorophenyl phenyl ether	CP	204.65	12.055	4.3	204	206, 141
Azobenzene	NCB	182.22	12.324	3.8	182	105, 77
4-bromophenyl phenyl ether	NCP	249.10	12.888	4.4	248	250, 141
Hexachlorobenzene	CB	284.80	13.117	5.7	284	142, 249
Phenanthrene-d10 - IS	PAH	188.29	13.690	4.5	188	94
Anthracene	PAH	178.23	13.732	4.4	178	176, 179
Phenanthrene	PAH	178.23	13.830	4.5	178	179, 176
Carbazole	NCB	167.21	14.218	3.7	167	166, 139
Di-n-butyl phthalate	PAEs	278.34	15.280	4.7	149	150, 104
Fluoranthene	PAH	202.25	16.491	5.2	202	101, 203

Pyrene	PAH	202.25	17.026	4.9	202	200, 203
p-terfenil-d14 - SURR	OT	224.40	17.580	5.6	244	243, 245
Benzyl butyl phthalate	PAEs	312.4	19.048	4.9	149	91, 206
Benzo(a)anthracene	PAH	228.30	20.126	5.8	228	229, 226
Chrysene-d12 - IS	PAH	240.40	20.171	5.7	240	120
Chrysene	PAH	228.30	20.234	5.7	228	226, 229
Benzo(b)fluoranthene	PAH	252.30	22.802	6.4	252	253, 125
Benzo(k)fluoranthene	PAH	252.30	22.864	6.4	252	253, 125
Benzo(a)pyrene	PAH	252.30	23.516	6.4	252	253, 125
Perylene-d12 - IS	PAH	264.40	23.651	5.8	264	260
Indene(1,2,3-c,d)pyrene	PAH	276.30	25.846	7.0	276	138, 227
Dibenzo(a,h)anthracene	PAH	278.30	25.904	6.5	278	139, 279
Benzo(g,h,i)perylene	PAH	276.30	26.317	6.6	276	138, 277

PAH: Polyaromatic hydrocarbons; PAEs: phthalate esters; CB: Chlorinated benzenes; CP: Chlorinated phenols; NCP: Non chlorinated phenols;

NCB: Non chlorinated benzenes; OT: Other classifications

2. DISCUSSÃO

O método proposto neste estudo foi validado com sucesso de acordo com as orientações da ISO IEC 17025/2017. Conforme descrito anteriormente, resultados satisfatórios referentes aos parâmetros analíticos de mérito foram obtidos para os analitos incluindo boa linearidade (r^2) e ampla faixa linear. O método se mostrou eficiente para a análise proposta, sendo avaliado em cinco tipos de matrizes de água.

Os parâmetros tempo de vórtex, tempo e rotação de centrífuga e volume de solvente dispersor foram fixados devido às informações obtidas em estudo anterior. Enquanto o Planejamento de Doehlert demonstrou a condição ótima de extração para os parâmetros volume amostra e volume de solvente extrator.

Os achados deste trabalho são corroborados por outros estudos que, através da DLLME conseguiram analisar amostras de água para compostos similares, porém com menor número de analitos envolvidos. El-Deen e colaboradores (2023) publicaram uma grande revisão de trabalhos publicados que têm como metodologia de extração a DLLME. Dentre os estudos apontados há uma grande diversidade de matrizes utilizadas desde amostras ambientais a amostras biológicas. Da mesma forma, os métodos de quantificação variam de GC/MS (TORBATI et al, 2019) a Espectrofotometria UV-Vis (TUZEN et al, 2021; ALTUNAY, 2021). Quanto aos analitos, foram determinados medicamentos (JOUYBAN et al, 2021), pesticidas (LIU et al, 2018), substâncias inorgânicas (ZHANG et al, 2022) e orgânicas (MAKOS et al, 2018), metais pesados (EZODIN et al, 2018). Tal fato demonstra a versatilidade e aplicabilidade da DLLME para diversos analitos com variadas propriedades físico-químicas. Além disso, esta técnica permite a aplicação em amostras aquosas de diferentes complexidades tais como ambientais e biológicas.

Quanto a sustentabilidade do método, analisado pela ferramenta SPMS – Métrica Sustentável de Preparo de Amostra, do inglês, *Sample Preparation of Metric Sustainability*, na comparação entre o método oficial e o método proposto por este trabalho, grandes melhorias foram desenvolvidas. O volume de amostra utilizado passou de 1 litro, do método oficial para 15 mL no método proposto; o volume de solvente, por mais que orgânico, de 300 mL para 0,5 mL; o tempo de

procedimento, de uma hora para três minutos. Todas essas melhorias demonstram que o método é mais sustentável, mais verde e tão eficiente quanto o método oficial.

As características analíticas do método desenvolvido neste trabalho também foram comparadas com outros métodos relatados na literatura para a determinação de SVOCs em amostras de água conforme enfatizado no manuscrito a ser submetido para publicação. Apesar dos LOQs mais elevados obtidos com este estudo, esta metodologia permitiu um fluxo de trabalho experimental rápido (concluído em 3 min). Além disso, o método permitiu a determinação simultânea de 47 analitos em uma única corrida cromatográfica, o que é particularmente interessante para análises ambientais que geralmente requerem uma triagem/determinação de múltiplos analitos.

3. CONCLUSÕES

Neste trabalho foi proposto o desenvolvimento e a validação de um método de extração por DLLME e análise por GC-MS para a determinação de 47 SVOCs amostras de água. O método foi desenvolvido e validado com sucesso, podendo ser uma alternativa aos métodos tradicionais que são laboriosos, onerosos e apresentam grandes problemas como grandes quantidades de solventes orgânicos e resíduos gerados.

Adicionalmente, a metodologia analítica proposta foi comparada com um método oficial em termos de sustentabilidade através da ferramenta SPMS. Neste caso, o método baseado em DLLME apresentou melhora significativa nos aspectos de sustentabilidade o que foi provado quantitativamente através do escore global que leva em consideração diversos aspectos inerentes ao procedimento de preparo de amostras.

Cabe destacar que o método desenvolvido já está inserido em rotina laboratorial de um laboratório de análises ambientais e está sendo comercializado. Também já foi certificado pela Rede Metrológica do Rio Grande do Sul e está inserido no processo de extensão de escopo de acreditação pela Coordenação Geral de Acreditação do Inmetro (CGCRE).

4. REFERÊNCIAS

ALTUNAY, N. An optimization approach for fast, simple and accurate determination of indigo-carmin in food samples, *Spectrochim. Acta, Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* 257 (2021) 119791.

Anastas, P.T., Williamson, T.C. (eds.): *Green chemistry: designing chemistry for the environment*, vol. 626. ACS Symposium Series, **American Chemical Society**, Washington, DC (1996b)

Anastas, P.T., Williamson, T.C.: *Green chemistry: an overview*. In: Anastas, P.T., Williamson, T.C. (eds.) *Green chemistry: designing chemistry for the environment*, vol. 626, pp. 1–17. ACS Symposium Series, **American Chemical Society**, Washington, DC (1996a)

BENJAMIN, Sailas; PRADEEP, Selvanesan; SARATH JOSH, Moolakkariyil; KUMAR, Sunil; MASAI, Eiji. A monograph on the remediation of hazardous phthalates. **Journal of Hazardous Materials**, [S. l.], v. 298, p. 58– 45 72, 2015. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2015.05.004. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhazmat.2015.05.004>.

BRASIL. Constituição (1985). Portaria nº 329, de 02 de setembro de 1985. . Brasília, GO, 02 set. 1985. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/mapa_gm/1985/prt0329_02_09_1985.html. Acesso em: 06 nov. 2023.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Saúde Ambiental, do Trabalhador e Vigilância das Emergências em Saúde Pública. **Poluição atmosférica na ótica do Sistema Único de Saúde: vigilância em saúde ambiental e qualidade do ar** [recurso eletrônico] / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Saúde Ambiental, do Trabalhador e Vigilância das Emergências em Saúde Pública - Brasília : Ministério da Saúde, 2021. Disponível em: <https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/poluicao_atmosferica_SUS_saude_ambiental.pdf > Acesso em: 27 Fev. 2024

BRASIL. Resolução nº 420, de 28 de dezembro de 2009. . Brasília, Disponível em: <https://cetesb.sp.gov.br/areas-contaminadas/wp-content/uploads/sites/17/2017/09/resolucao-conama-420-2009-gerenciamento-de-ac.pdf>. Acesso em: 27 fev. 2024.

CETESB (São Paulo) Qualidade das águas interiores no estado de São Paulo 2022 [recurso eletrônico] / CETESB ; Coordenação geral Maria Helena R.B. Martins ; Coordenação técnica Fábio Netto Moreno, Marta Condé Lamparelli, Beatriz Durazzo Ruiz; Coordenação cartográfica Carmen Lúcia V. Midaglia ; Equipe técnica Cláudio Roberto Palombo ... [et al.]. – São Paulo : CETESB, 2023.

CETESB. **Ficha de Informação Toxicológica**: ftalatos. Ftalatos. 2022. Disponível em: <https://cetesb.sp.gov.br/laboratorios/wp-content/uploads/sites/24/2022/09/Ftalatos.pdf>. Acesso em: 09 nov. 2023.

CETESB. **Histórico e Legislação de Poluentes Orgânicos Persistentes (POPs) no Brasil**: centro regional da convenção de estocolmo para países da américa latina e caribe. Centro Regional da Convenção de Estocolmo para Países da América Latina e Caribe. 2009. Disponível em: <https://cetesb.sp.gov.br/pops/wp-content/uploads/sites/19/2018/06/Hist%C3%B3rico-e-legisla%C3%A7%C3%A3o-de-poluente-org%C3%A2nicos-persistentes-POPs-no-Brasil.pdf>. Acesso em: 06 nov. 2023.

D'OLIVEIRA, Brenda Helena, Et al **Gerenciamento de Áreas Contaminadas**. 2023. 9 f. Monografia (Especialização) - Curso de Geotecnia Ambiental, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2023.

EL-DEEN, Asmaa Kamal *et al.* Recent advances in dispersion strategies for dispersive liquid–liquid microextraction from green chemistry perspectives. **Microchemical Journal**, [S.L.], v. 191, n. 1, p. 1-24, ago. 2023. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.microc.2023.108807>.

EZODDIN, M., LAMEI, N., SIAMI, F., ABDI, K., KARIMI, M.A. Deep Eutectic Solvent Based Air Assisted Ligandless Emulsification Liquid-Liquid Microextraction for Preconcentration of Some Heavy Metals in Biological and Environmental Samples, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 101 (2018) 814–819, <https://doi.org/10.1007/s00128-018-2456-8>.

GAŁUSZKA, Agnieszka; MIGASZEWSKI, Zdzisław; NAMIEŚNIK, Jacek. The 12 principles of green analytical chemistry and the SIGNIFICANCE mnemonic of green analytical practices. **Trac Trends In Analytical Chemistry**, [S.L.], v. 50, n. 1, p. 78-84, out. 2013. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.trac.2013.04.010>.

HASSAN, Farah Wahidah Mohd; RAOOV, Muggundha; KAMARUZAMAN, Sazlinda; SANAGI, Mohd Marsin; YOSHIDA, Nao; HIROTA, Yuichiro; NISHIYAMA, Norikazu; YAHAYA, Noorfatimah. Dispersive liquid–liquid microextraction combined with dispersive solid-phase extraction for gas chromatography with mass spectrometry determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in aqueous matrices. **Journal Of Separation Science**, [S.L.], v. 41, n. 19, p. 3751-3763, 9 set. 2018. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/jssc.201800326>.

HINDERSMANN, Benjamin; FÖRSTER, Antonia; ACHTEN, Christine. Novel and specific source identification of PAH in urban soils: alk-pah-bpca index and .:v:::-shape distribution pattern. **Environmental Pollution**, [S.L.], v. 257, p. 113594-113594, fev. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113594>.

HORWAT M., TICE M., KJELLERUP B. V., Biofilms at work: Bio-, phyto- and rhizoremediation approaches for soils contaminated with polychlorinated biphenyls, *AIMS Bioengineering* 2018; vol. 2, ed. 4 (324-334).

HOU, Dekun *et al.* Determination of OCPs and PCBs in environmental water samples by GC-DLLME optimized by Response Surface Methodology. **Mongolian Journal Of Chemistry**, [S.L.], v. 20, n. 46, p. 13-23, 27 dez. 2019. Mongolian Journals Online. <http://dx.doi.org/10.5564/mjc.v20i46.1237>.

Jim Coglianò (comp.). **PCBs: Cancer Dose-Response Assessment and Application to Environmental Mixtures**. 1996. Disponível em: https://www.epa.gov/sites/default/files/2015-10/documents/pcbs_cancer_dose-response_assessment_and_application_to_environmental_mixtures.pdf. Acesso em: 08 nov. 2023.

JOUYBAN, A. Jouyban, FARAJZADEH, M.A., KHODADADEIAN, F., KHOUBNASABJAFARI, M., AFSHAR MOGADDAM, M.R. Development of a deep eutectic solvent-based ultrasound-assisted homogenous liquid-liquid microextraction method for simultaneous extraction of daclatasvir and sofosbuvir from urine samples, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 204 (2021), 114254, <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2021.114254>.

LETZ, Gideon. The Toxicology of PCBs: an overview for clinicians. **The Western Journal Of Medicine**, Berkley, p. 534-540, abr. 1983. Disponível em: <https://www.ncbi-nlm-nih.ez41.periodicos.capes.gov.br/pmc/articles/PMC1010737/pdf/westjmed00200-0056.pdf>. Acesso em: 08 nov. 2023.

LINTHORST, J. A.. An overview: origins and development of green chemistry. **Found Chem**, Netherlands, v. 1, n. 12, p. 55-68, 01 out. 2009.

Liu, Lin et al. Characteristics and Health Risk Assessment of Semi-Volatile Organic Contaminants in Rural Pond Water of Hebei Province. *International Journal Of Environmental Research And Public Health*, [S.L.], v. 16, n. 22, p. 1-14, 14 nov. 2019. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/ijerph16224481>.

LIU, X., LIU, C., WANG, P., YAO, G., LIU, D., ZHOU, Z. Effervescence assisted dispersive liquid-liquid microextraction based on cohesive floating organic drop for the determination of herbicides and fungicides in water and grape juice, *Food Chem.* 245 (2018) 653–658, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.08.100> CO - FOCHDJ.

MAKOS, P., PRZYJAZNY, A., BOCZKAJ, G. Hydrophobic deep eutectic solvents as “green” extraction media for polycyclic aromatic hydrocarbons in aqueous samples, *J. Chromatogr. A.* 1570 (2018) 28–37. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2018.07.070>.

MARTINS, Manoel Leonardo et al. Microextração Líquido-Líquido Dispersiva (DLLME): fundamentos e aplicações. **Scientia Chromatographica**, [S.L.], v. 4, n. 1, p. 29-45, dez. 2012. GN1 Genesis Network. <http://dx.doi.org/10.4322/sc.2012.004>.

MERHABY, Dima et al. Overview of sediments pollution by PAHs and PCBs in mediterranean basin: transport, fate, occurrence, and distribution. **Marine Pollution Bulletin**, [S.L.], v. 149, p. 1-17, dez. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.110646>.

MESQUITA, Sueli Alexandra de. **Avaliação da contaminação do leite materno por pesticidas organoclorados persistentes em mulheres doadoras do Banco de leite do Instituto Fernandes Figueira, RJ**. 2001. 84 f. Dissertação

(Mestrado) - Curso de Ciências na Área de Saúde Pública, Fiocruz, Rio de Janeiro, 2001. Disponível em: <https://teses.icict.fiocruz.br/pdf/mesquitasm.pdf>. Acesso em: 06 nov. 2023.

MILLS III S. A., THAL D. I., BARNEY J., A summary of the 209 PCB congener nomenclature, *Chemosphere* 2007; vol. 68 (1603-1612).

Manoel Leonardo Martins, Ednei Gilberto Primel, Sergiane Souza Caldas, Osmar Damian Prestes, Martha Bohrer Adaime, Renato Zanella. Microextração Líquido-Líquido Dispersiva (DLLME): fundamentos e aplicações. *Scientia Chromatographica* 2012; 4(1):35-51

MISRA, K. *et al.* Lindane: a contaminant of global concern. **Journal Of Industrial Pollution Control**. New Dehli, p. 169-187. jan. 2007.

Mojiri, A., Zhou, J. L., Ohashi, A., Ozaki, N., and Kindaichi, T. (2019). Comprehensive review of polycyclic aromatic hydrocarbons in water sources, their effects and treatments. *Sci. Total Environ.* 2019:133971. doi: 10.1016/j.scitotenv.2019.133971

MOREIRA, Bruna Juliana; YOKOYA, Jennifer Michiko Chauca; GAITANI, Cristiane Masetto de. Microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME): fundamentos, inovações e aplicações biológicas. **Scientia Chromatographica**, [S.L.], v. 6, n. 3, p. 186-204, 2014. GN1 Genesis Network. <http://dx.doi.org/10.4322/sc.2015.005>.

MUCZYNSKI, Vincent. **Polluants Environnementaux Et Développement Du Testicule Foetal Humain: Effets Et Mécanismes D'action Des Phtalates**. 2011. Université Paris-Sud 11, [S. l.], 2011.

NORTH, Michelle L.; TAKARO, Tim K.; DIAMOND, Miriam L.; ELLIS, Anne K. Effects of phthalates on the development and expression of allergic disease and asthma. **Annals of Allergy, Asthma & Immunology**, [S. l.], p. 1–7, 2014. DOI: 10.1016/j.anai.2014.03.013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.anai.2014.03.013>.

ONGLEY, Edwin D.. **Food and Agriculture Organization of the United Nations**. 1996. FAO. Disponível em: <https://www.fao.org/3/w2598e/w2598e00.htm#Contents>. Acesso em: 06 nov. 2023.

PARENTE, Camila *et al.* Inverse dispersive liquid-liquid microextraction(I-DLLME) for the simultaneous and green preconcentration of DEET and permethrin from freshwater. **Sustainable Chemistry And Pharmacy**, [S.L.], v. 27, n. 1, p. 66-69, jun. 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scp.2022.100669>.

PASSOS, Elisangela de Andrade. **Aula 5: espectrometria de massas**. Espectrometria de Massas. 2024. Disponível em: https://cesad.ufs.br/ORBI/public/uploadCatalogo/18030416022012Metodos_Instrumentais_de_Analise_-_Aula_05.pdf. Acesso em: 28 fev. 2024.

PATEL, Avani Bharatkumar et al. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons: sources, toxicity, and remediation approaches. *Frontiers In Microbiology*, [S.L.], v. 20, n. 11, p. 1-23, 5 nov. 2020. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2020.562813>. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2020.562813/full#B94>.

PERUZZO, Tito Miragaia. **Química na Abordagem do Cotidiano**. São Paulo: Saraiva, 2015. 912 p.

POLANSKA, Kinga; LIGOCKA, Danuta; SOBALA, Wojciech; HANKE, Wojciech. Phthalate exposure and child development: The Polish Mother and Child Cohort Study. **Early Human Development**, [S. l.], v. 90, n. 9, p. 477–485, 2014. DOI: 10.1016/j.earlhumdev.2014.06.006. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.earlhumdev.2014.06.006>

RELASC. **Nuestra historia**. 2015. Disponível em: <https://www.relasc.org/nuestra-historia/>. Acesso em: 19 fev. 2024.

REZAEI, Mohammad et al. Determination of organic compounds in water using dispersive liquid–liquid microextraction. **Journal Of Chromatography A**, [S.L.], v. 1116, n. 1-2, p. 1-9, maio 2006. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2006.03.007>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.ez41.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0021967306005280>. Acesso em: 13 nov. 2023.

REZAEI, Mohammad et al. Evolution of dispersive liquid–liquid microextraction method. **Journal Of Chromatography A**, [S.L.], v. 1217, n. 16, p. 2342-2357, abr. 2010. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2009.11.088>.

RIBEIRO, Wagner Costa. **A Ordem Ambiental Internacional**. 3. ed. São Paulo: Geousp, 2001. 180 p.

RITTER, L.; SOLOMON, K.R.; FORGET, J. STEMEROFF, M & O'LEARY, C. (1995). **A Review of Selected Persistent Organic Pollutants**. Draft Interim Report: International Program on Chemical Safety, WHO, Geneva, Switzerland;

RODRIGUES, Keyla. **Efeitos biológicos da exposição aos ftalatos de di-(2-etilhexila) e ftalato de dibutila: uma revisão narrativa**. 2021. 72 f. TCC (Graduação) - Curso de Farmácia, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2021. Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/bitstream/handle/123456789/223715/TCC%20-%20Keyla%20Rodrigues.pdf?sequence=1>. Acesso em: 08 nov. 2023.

SANTOS, Edson et al. **Principais técnicas de remediação e gerenciamento de áreas contaminadas por hidrocarbonetos no estado de São Paulo**. 2008. 127 f. Monografia (Especialização) - Curso de Engenharia Mecânica, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2008. Disponível em: https://cetesb.sp.gov.br/escolasuperior/wp-content/uploads/sites/30/2016/06/Edson_Helio_Matilde.pdf. Acesso em: 27 fev. 2024.

SEEBUNRUENG, Ketsarin *et al.* 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**, [S.L.], v. 103, n. 1, p. 51-58, maio 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.11.024>.

SHI, Zhi-Guo; LEE, Hian Kee. Dispersive Liquid–Liquid Microextraction Coupled with Dispersive μ -Solid-Phase Extraction for the Fast Determination of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Environmental Water Samples. **Analytical Chemistry**, [S.L.], v. 82, n. 4, p. 1540-1545, 21 jan. 2010. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/ac9023632>.

SKOOG, Douglas *et al.* **Fundamentos da Química Analítica**. 9. ed. Boston: Cengage Learning, 2014. 1088 p.

Stephenson, G.A. and Solomon, K.R. 1993. **Pesticides and the Environment**. Department of Environmental Biology, University of Guelph, Guelph, Ontario, Canada.

THE STOCKHOLM CONVENTION. The 12 initial POPs under the Stockholm Convention. Disponível em: <https://www.pops.int/TheConvention/ThePOPs/The12InitialPOPs/tabid/296/Default.aspx>. Acesso em: 04 dez. 2023.

TORBATI, M., FARAJZADEH, M.A., AFSHAR MOGADDAM, M.R. Development of microwave-assisted liquid-liquid extraction combined with lighter than water in syringe dispersive liquid-liquid microextraction using deep eutectic solvents: Application in extraction of some herbicides from wheat, *Microchem. J.* 147 (2019) 1103–1108, <https://doi.org/10.1016/j.microc.2019.04.044>.

TUZEN, M., ALTUNAY, N., ELIK, A., AFSHAR MOGADDAM, M.R., KATIN, K. Experimental and theoretical investigation for the spectrophotometric determination of hiabendazole in fruit samples, *Microchem. J.* 168 (2021), 106488, <https://doi.org/10.1016/j.microc.2021.106488>. CO - MICJAN.

USEPA. **EPA Method 8270E (SW-846): Semivolatile Organic Compounds by Gas Chromatography/Mass Spectrometry (GC-MS)**. 2018. Disponível em: <https://www.epa.gov/esam/epa-method-8270e-sw-846-semivolatile-organic-compounds-gas-chromatographymass-spectrometry-gc>. Acesso em: 16 nov. 2023.

USEPA. **Learn about Polychlorinated Biphenyls**. 2023. Disponível em: <https://www.epa.gov/pcbs/learn-about-polychlorinated-biphenyls#healtheffects>. Acesso em: 08 nov. 2023.

USEPA. **Phthalates**: action plan. Action Plan. 2012. Disponível em: https://www.epa.gov/sites/default/files/2015-09/documents/phthalates_actionplan_revised_2012-03-14.pdf. Acesso em: 09 nov. 2023.

USEPA. **Polynuclear Aromatic Hydrocarbons**: ambient water quality criteria. Ambient water quality criteria. 1979. Disponível em:

<https://nepis.epa.gov/Exe/ZyNET.exe/9100H7OR.txt?ZyActionD=ZyDocument&Client=EPA&Index=1976%20Thru%201980&Docs=&Query=&Time=&EndTime=&SearchMethod=1&TocRestrict=n&Toc=&TocEntry=&QField=&QFieldYear=&QFieldMonth=&QFieldDay=&UseQField=&IntQFieldOp=0&ExtQFieldOp=0&XmlQuery=&File=D%3A%5CZYFILES%5CINDEX%20DATA%5C76THRU80%5CTXT%5C0000016%5C9100H7OR.txt&User=ANONYMOUS&Password=anonymous&SortMethod=h%7C-&MaximumDocuments=1&FuzzyDegree=0&ImageQuality=r75g8/r75g8/x150y150g16/i425&Display=hpfr&DefSeekPage=x&SearchBack=ZyActionL&Back=ZyActionS&BackDesc=Results%20page&MaximumPages=1&ZyEntry=1&slide.> Acesso em: 06 nov. 2023.

VALENTE R. P. C., Destinação Final Resíduos de Ascaréis – PCB's São Paulo, 2011. Apostila complementar da palestra “Alternativas de Destinação Final de Resíduos com ascaréis (PCB's) ”.

VALENTE, Antonio Luiz Pires; AUGUSTO, Fabio. Microextração por fase sólida. **Química Nova**, São Paulo, v. 23, n. 4, p. 523-530, out. 1999. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/qn/a/RMwM7kMXGtcvdrMPjcvTR4q/?format=pdf&lang=pt.> Acesso em: 12 dez.

Weschler, C. J., & Nazaroff, W. W. (2008). Semivolatile organic compounds in indoor environments. **Atmospheric Environment**, 42(40), 9018–9040. doi:10.1016/j.atmosenv.2008.09.05

XU, Hui *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**, [S.L.], v. 636, n. 1, p. 28-33, mar. 2009. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aca.2009.01.028>.

YAN, Li *et al.* Application of Solvent Demulsification-Dispersive Liquid-Liquid Microextraction Based on Solidification of Floating Organic Drop Coupled with High Performance Liquid Chromatography in Determination of Sulfonylurea Herbicides in Water and Soil. **Journal Of The Brazilian Chemical Society**, [S.L.], v. 27, n. 10, p. 1792-1799, jan. 2016. Sociedade Brasileira de Química (SBQ). <http://dx.doi.org/10.5935/0103-5053.20160060>.

ZHANG, K., GUO, R., WANG, Y., NIE, Q., ZHU, G. One-step derivatization and temperature-controlled vortex-assisted liquid-liquid microextraction based on the solidification of floating deep eutectic solvents coupled to UV-Vis spectrophotometry for the rapid determination of total iron in water and food, **Food Chem.** 384 (2022), 132414, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132414> CO - FOCHDJ.