

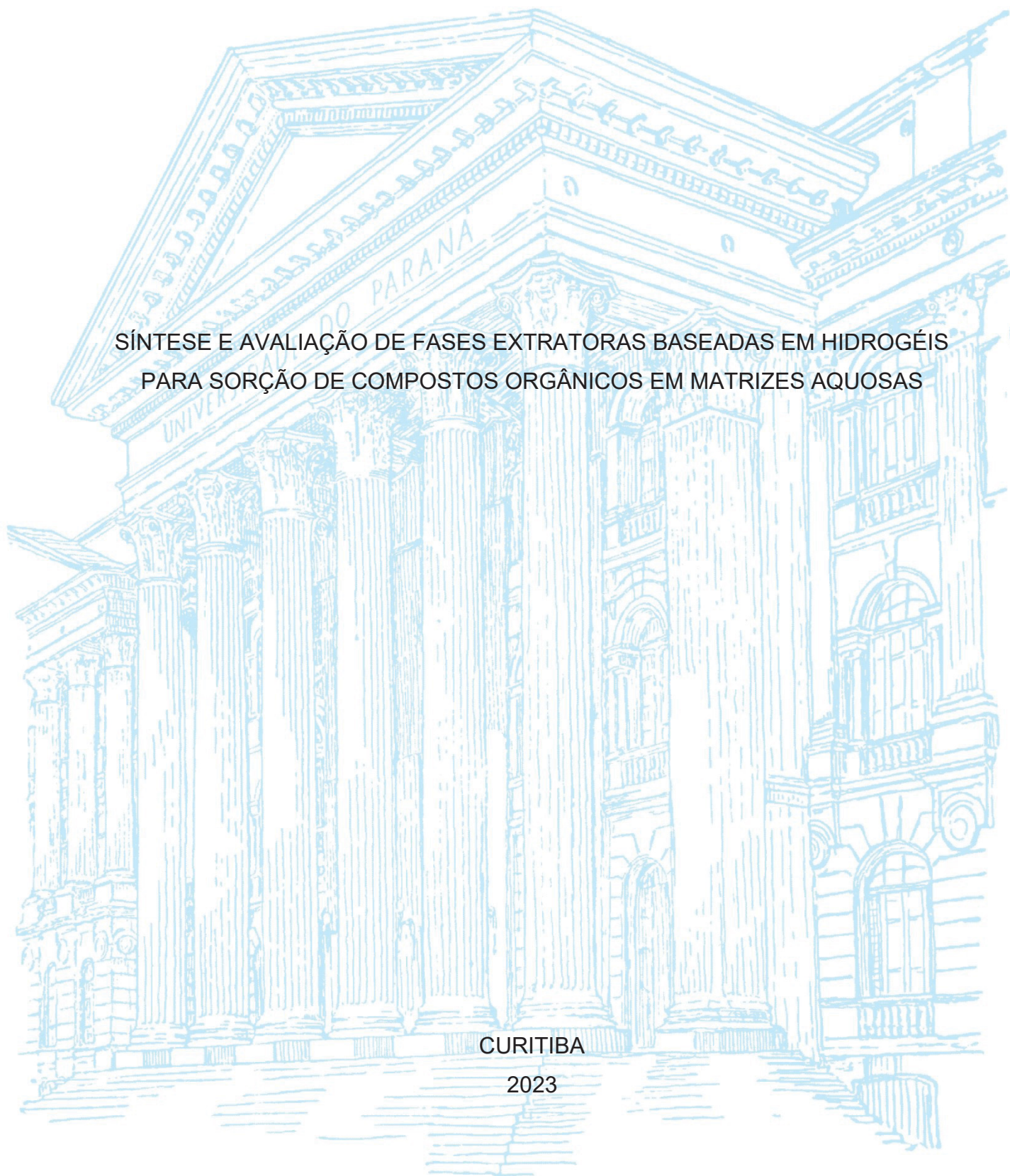
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

RAYTA PAIM HORTA

SÍNTESE E AVALIAÇÃO DE FASES EXTRATORAS BASEADAS EM HIDROGÉIS
PARA SORÇÃO DE COMPOSTOS ORGÂNICOS EM MATRIZES AQUOSAS

CURITIBA

2023



RAYTA PAIM HORTA

SÍNTESE E AVALIAÇÃO DE FASES EXTRATORAS BASEADAS EM HIDROGÉIS
PARA SORÇÃO DE COMPOSTOS ORGÂNICOS EM MATRIZES AQUOSAS

Tese apresentada ao curso de Pós-Graduação em Química, Setor de Exatas, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Química.

Orientador: Prof. Dr. Bruno José Gonçalves da Silva

CURITIBA

2023

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SISTEMA DE BIBLIOTECAS – BIBLIOTECA CIÊNCIA E TECNOLOGIA

Horta, Rayta Paim

Síntese e avaliação de fases extratoras baseadas em hidrogéis para sorção de compostos orgânicos em matrizes aquosas. / Rayta Paim Horta. – Curitiba, 2023.

1 recurso on-line : PDF.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Exatas, Programa de Pós-Graduação em Química.

Orientador: Prof. Dr. Bruno José Gonçalves da Silva.

1. Hidrogel. 2. Sorventes. 3. Cromatografia Gasosa. 4. Espectrometria de Massa. I. Silva, Bruno José Gonçalves da. II. Universidade Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Química. III. Título.

Bibliotecária: Roseny Rivelini Morciani CRB-9/1585



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR DE CIÊNCIAS EXATAS
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO QUÍMICA -
40001016026P2

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação QUÍMICA da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da tese de Doutorado de **RAYTA PAIM HORTA** intitulada: **Síntese e avaliação de fases extratoras baseadas em hidrogéis para sorção de compostos orgânicos em matrizes aquosas**, sob orientação do Prof. Dr. BRUNO JOSÉ GONÇALVES DA SILVA, que após terem inquirido a aluna e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de doutora está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 16 de Maio de 2023.

Assinatura Eletrônica

17/05/2023 08:48:17.0

BRUNO JOSÉ GONÇALVES DA SILVA
Presidente da Banca Examinadora

Assinatura Eletrônica

18/05/2023 11:36:45.0

IZABEL CRISTINA RIEGEL VIDOTTI MIYATA
Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Assinatura Eletrônica

24/05/2023 11:41:22.0

LIZANDRA MARIA ZIMMERMANN
Avaliador Externo (UNIVERSIDADE REGIONAL DE BLUMENAU)

Assinatura Eletrônica

01/06/2023 14:41:09.0

SUZANA LUCY NIXDORF
Avaliador Externo (UNIVERSIDADE ESTADUAL DE LONDRINA)

Assinatura Eletrônica

18/05/2023 06:14:55.0

FREDERICO LUIS FELIPE SOARES
Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

CENTRO POLITÉCNICO - CURITIBA - Paraná - Brasil
CEP 81531-990 - Tel: (41) 3361-3006 - E-mail: cpqquim@ufpr.br

Documento assinado eletronicamente de acordo com o disposto na legislação federal Decreto 8539 de 08 de outubro de 2015.
Gerado e autenticado pelo SIGA-UFPR, com a seguinte identificação única: 284795

Para autenticar este documento/assinatura, acesse <https://www.prppg.ufpr.br/siga/visitante/autenticacaoassinaturas.jsp> e insira o código 284795

AGRADECIMENTOS

Aos órgãos de fomento, CAPES e CNPq, pelo apoio financeiro e financiamento.

À Universidade Federal do Paraná (UFPR), ao Departamento de Química e ao Programa de Pós-graduação em Química por possibilitarem a minha formação durante todos esses anos.

Ao Centro de Microscopia da UFPR (CME) pelas análises de Microscopia Eletrônica de Varredura.

À Central Analítica do Departamento de Química da UFPR, em especial à Grazielli da Rocha, pelas análises de Espectroscopia no Infravermelho, e ao Geraldo de Paiva do Laboratório de Hialotecnica pela confecção das barras de vidro.

Ao Prof. Dr. Gilberto Abate por todas as correções e excelentes contribuições como parecerista dos relatórios anuais e na banca do exame de qualificação.

Às professoras Dr^a Lizandra Maria Zimmermann e Dr^a Suzana Lucy Nixdorf por prontamente aceitarem participar da banca de defesa da tese e por terem contribuído de forma tão relevante.

À Prof. Dr^a Izabel Cristina Riegel-Vidotti pela imensa ajuda com hidrogéis em trabalhos anteriores do grupo permitindo que esse projeto pudesse sair do papel e pelas sugestões importantes nas bancas de qualificação e de defesa da tese.

Ao Prof. Dr. Frederico Luis Felipe Soares pela paciência e assistência nos tratamentos estatísticos além das observações pertinentes em diversos tópicos nas bancas de qualificação e de defesa da tese.

Ao meu orientador Prof. Dr. Bruno José Gonçalves da Silva pela abertura ao diálogo, leveza, consideração e respeito sempre. Tudo isso foi muito importante nesses anos de orientação, principalmente enfrentando uma pandemia.

Aos amigos e colegas do grupo CroMe pelo apoio, auxílio e troca de ideias em várias ocasiões. Principalmente à Andressa, Ana Paula, Carol, João e Naiara que compartilharam comigo os perrengues na bancada e no GC, me ajudando e dando risada comigo nesse processo. E especialmente à minha amiga Beatriz pela parceria fundamental em tantos momentos, segurando a minha mão e me levantado incontáveis vezes.

Ao GPMIn pelo apoio em várias análises e etapas, em especial à Ana Caroline Jaski por todo o auxílio e parceria.

Aos meus amigos e colegas do LABQAM dos grupos Tecnotrater, GQA, GAQQ e Datalab pela ajuda com equipamentos, reagentes e dúvidas. Agradeço à querida Mayara Padovan pelo auxílio com a amostra de água superficial.

Aos amigos que fiz em todos esses anos no laboratório e na UFPR pelo presente especial que eu ganhei de levar a amizade de vocês para a minha vida. Sem o apoio de vocês essa trilha teria sido mais difícil e sem graça. A lista de pessoas queridas e especiais é muito grande, mas nessa jornada do doutorado não posso deixar de agradecer às manas do laboratório, especialmente minhas amigas Amanda, Beatriz e Sheisa pelo amparo e por aguentarem tantos desabafos.

À toda minha família por serem minha inspiração e meu alicerce. Dentre tantos agradecimentos que merecem, eu sou muito grata por acreditarem na minha capacidade, por terem se desdobrado de tantas formas para que eu tivesse condições de estudar, por torcerem por mim em todos os momentos e por me fazerem sentir segura de que o amor de vocês é infinito. Sou muito grata e amo imensamente cada um.

Aos meus sobrinhos por torcerem que eu tirasse mil pontos na prova ou por simplesmente me lembrarem do que de fato é importante na vida.

Ao meu marido pelo amor, incentivo e por ter me dado forças em todos os momentos, principalmente nos difíceis. Agradeço por ter aceitado dividir a vida comigo, por constantemente me doar doses de otimismo para que eu consiga enxergar o lado bom e por acolher todas as minhas versões, mesmo as de mau humor.

A Deus e a todos que participaram e ajudaram, não só nessa jornada, mas em toda a minha vida. Agradeço aos amigos, profissionais e diversas outras pessoas que contribuíram, incentivaram, cuidaram, foram inspiração ou me proporcionaram exemplos que fizeram com que eu aprendesse, refletisse, mudasse e crescesse. Muito obrigada.

*It's times like these you learn to live again,
It's times like these you give and give again,
It's times like these you learn to love again,
It's times like these time and time again.*
(Foo Fighters)

RESUMO

A determinação de compostos orgânicos em baixas concentrações (contaminantes, fármacos e adulterantes, por exemplo) em matrizes aquosas pode ser de interesse para diversas áreas como a forense, clínica, alimentícia ou ambiental. Entretanto, é comum que a análise seja realizada em amostras de alta complexidade, sendo fundamental o emprego de técnicas adequadas de preparo de amostra. Nesse contexto, pode-se destacar a extração sortiva em barra de agitação (SBSE) que é uma técnica miniaturizada com vantagens de facilidade de operação além de volumes reduzidos de amostra e solvente. Poucos dispositivos SBSE estão disponíveis comercialmente, o que faz com que a tendência seja o desenvolvimento de novas fases extratoras, com objetivo de redução do custo e maior seletividade. Ainda pouco explorados, os géis poliméricos hidrofílicos, hidrogéis, são interessantes alternativas como sorventes. Esses materiais apresentam vantagens de capacidade de absorção de água sem que ocorra a desintegração da rede polimérica, além da presença de grupos funcionais que podem permitir a sorção de analitos. Quando submetidos a condições de congelamento e descongelamento, são denominados criogéis. Neste trabalho objetivou-se realizar o preparo de diferentes géis avaliando a aplicabilidade como fases SBSE para sorção de desreguladores endócrinos: agrotóxicos (atrazina e 3,5,6-tricloro-2-piridinol) e conservantes da classe dos parabenos (metil, etil, propil e butilparabeno). Essas substâncias foram selecionadas por apresentarem diferentes características físico-químicas como $\log K_{ow}$ (de 1,96 a 3,57) e a presença de diferentes grupos funcionais. Empregando os polímeros poli (álcool vinílico) (PVOH), alginato de sódio (Alg), pectina cítrica (Pec) e zeína (Z) foram preparados os géis PVOH, PVOH/Alg, PVOH/Pec e PVOH/Z. Foram analisadas diferentes matrizes aquosas, como fluidos biológicos simulados (leite materno, urina, saliva e plasma) e corpos aquáticos (água de abastecimento e de lago). O sistema analítico empregado foi a cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC/MS) para avaliar a sorção dessas diferentes substâncias, além de verificar o efeito matriz que poderia ocorrer com as amostras analisadas. Foi constatado que todas as fases foram capazes de extrair todos os analitos, mesmo sem a otimização dos parâmetros SBSE. Verificou-se uma tendência de maior extração para os compostos menos polares, dando indícios da predominância de interações hidrofóbicas para sorção. O gel de PVOH/Z (custo de reagentes de apenas R\$ 0,10 para cada dispositivo) foi o que se destacou com maior eficiência de extração para todos os compostos estudados, demonstrando o notável potencial de sorção que ainda pode ser bastante explorado. Análise por microscopia eletrônica de varredura permitiu verificar a morfologia dos materiais, sendo observados poros interconectados nos géis de PVOH/Pec e PVOH/Z. Já a determinação do grau de intumescimento em diferentes condições possibilitou verificar a relação inversamente proporcional da capacidade de absorção de água e a eficiência de extração. Além disso, apesar da complexidade das amostras com interferentes como proteínas, óleos e/ou matéria orgânica, resultando em efeito matriz significativo, foi possível realizar a detecção de todas as substâncias em todas as matrizes. Assim, demonstrou-se o excelente potencial de extração dessas fases baseadas em hidrogéis para sorção de substâncias distintas em diversas matrizes, possibilitando aplicação em diferentes áreas.

Palavras-chave: Criogel. Fase sorvente. SBSE. Matrizes aquosas. GC/MS.

ABSTRACT

The determination of organic compounds at low concentrations (contaminants, drugs, and adulterants, for example) in aqueous matrices may be of interest to several areas such as forensics, clinical, food or environmental. However, it is common for the analysis to be performed in highly complex samples, and the use of adequate sample preparation techniques is essential. In this context, it is possible to highlight the stir bar sorptive extraction (SBSE), which is a miniaturized technique with advantages of ease of operation in addition to reduced volumes of sample and solvent. Few SBSE devices are commercially available, presenting an urge towards the development of new extractor phases, with the aim of reducing cost and achieve greater selectivity. Still little explored, the hydrophilic polymeric gels, hydrogels, are interesting alternatives for sorbents in different matrices. These materials have the advantage of water absorption capacity without disintegration of the polymeric network, in addition to the presence of functional groups that can allow analyte sorption. When subjected to freezing and thawing conditions, they are called cryogels. Thus, this work aimed to prepare different hydrogels to evaluate their applicability as SBSE phases for the sorption of endocrine disruptors: pesticides (atrazine and 3,5,6-trichloro-2-pyridinol) and preservatives of the class of parabens (methyl, ethyl, propyl and butylparaben). These substances were selected because they had different physicochemical characteristics such as log K_{ow} (from 1.96 to 3.57) and the presence of different functional groups. The gels were obtained using poly(vinyl alcohol) (PVOH), sodium alginate (Alg), citrus pectin (Pec) and zein (Z) polymers combined as PVOH, PVOH/Alg, PVOH/Pec and PVOH/Z. Different aqueous matrices were analyzed, such as simulated biological fluids (breast milk, urine, saliva and plasma) and environmental matrices (tap and lake water). The analytical system used was gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC/MS) to evaluate the sorption of these different substances, in addition to verify the matrix effect that could occur with the analyzed samples. It was found that all phases were able to extract all analytes, even without optimizing the SBSE parameters. There was a trend towards greater extraction for less polar compounds, indicating the predominance of hydrophobic interactions for sorption. The PVOH/Z gel (reagent cost of only R\$ 0.10 per device) was the one that stood out with the highest sorption efficiency for all the compounds studied, demonstrating the remarkable potential for sorption that can still be fully explored. Scanning electron microscopy analysis allowed to verify the morphology of the materials, with interconnected pores being observed in the PVOH/Pec and PVOH/Z gels. Determining the degree of swelling under different conditions made it possible to verify the inversely proportional relationship between water absorption capacity and extraction efficiency. Furthermore, despite the complexity of the samples with interferents such as proteins, oils and/or organic matter, resulting in a significant matrix effect, it was possible to perform the detection of all substances in all matrices. Thus, the excellent sorption potential of these phases based on hydrogels for the sorption of diverse substances in distinct matrices was demonstrated, allowing application in different areas.

Keywords: Cryogel. Sorptive phase. SBSE. Aqueous matrices. GC/MS.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1: REPRESENTAÇÃO DO DISPOSITIVO E DO PROCESSO DE EXTRAÇÃO EMPREGADO NA SBSE COM FASE SORTIVA DE POLI (DIMETILSILOXANO) (PDMS).....	25
FIGURA 2: REPRESENTAÇÃO DA FORMAÇÃO DE UM CRIOGEL.....	28
FIGURA 3: ESTRUTURAS QUÍMICAS DO PVOH PARCIALMENTE E TOTALMENTE HIDROLISADO	29
FIGURA 4: MONÔMEROS β -D-MANURÔNICO (M) e α -L-GULURÔNICO (G) DO ALGINATO DE SÓDIO	30
FIGURA 5: ESTRUTURA DO ÁCIDO GALACTURÔNICO (A) E UNIDADE DE ÁCIDO GALACTURÔNICO METIL ESTERIFICADO (B).....	32
FIGURA 6: REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DE UM DOS MODELOS PROPOSTOS PARA A ESTRUTURA TERCIÁRIA DA α -ZEÍNA.....	34
FIGURA 7: DISCO DE HIDROGEL DE PVOH E PECTINA (A) E MICROGRAFIA ELETRÔNICA DO FILME DE HIDROGEL DE ALGINATO E ZEÍNA SUPORTADO EM FIBRA OCA DE POLIPROPILENO (B)	35
FIGURA 8: DISPOSITIVOS BASEADOS EM CRIOGEL PARA SBSE	37
FIGURA 9: ESTRUTURA QUÍMICA DOS ANALITOS SELECIONADOS NO TRABALHO	44
FIGURA 10: MOLDE CONSTITUÍDO POR SEGMENTO DE 1,5 cm DE PONTEIRA DE POLIPROPILENO (A), BARRA MAGNÉTICA DE VIDRO DE 1 cm (B) E BARRA MAGNÉTICA DE VIDRO ENVOLTA COM FITA DE TEFLON (C).....	53
FIGURA 11: REPRESENTAÇÃO DO PREPARO DE GÉIS DE PVOH EM DISPOSITIVOS SBSE	54
FIGURA 12: REPRESENTAÇÃO DO PREPARO DE GÉIS DE PVOH/ALG E PVOH/PEC EM DISPOSITIVOS SBSE	55
FIGURA 13: REPRESENTAÇÃO DO PREPARO DE GÉIS DE PVOH COM ZEÍNA OU ALGINATO DE SÓDIO EM PÓ EM DISPOSITIVOS SBSE.....	56
FIGURA 14: FRASCO DE EXTRAÇÃO COM DISPOSITVO SBSE (A), EXTRAÇÃO EM TRIPLICATA (B) E FRASCO DE DESSORÇÃO COM 2 mL DE METANOL (C).....	57

FIGURA 15: CROMATOGRAMA DA INJEÇÃO NO MODO <i>SPLITLESS</i> (1,5 mg L ⁻¹) COM REGISTRO <i>FULL SCAN</i> . TEMPERATURA INICIAL DO FORNO DE 120 °C POR 0,5 min, ELEVANDO-SE À 200 °C (15 °C min ⁻¹) E À 250 °C (20 °C min ⁻¹) MANTENDO POR 2,67 MINUTOS	64
FIGURA 16: ESPECTROS DE MASSAS DO METILPARABENO (A), 3,5,6-TRICLORO-2-PIRIDINOL (B), ATRAZINA (C) E BUTILPARABENO (D)	65
FIGURA 17: CROMATOGRAMA NO MODO SIM DOS ANALITOS (1,5 mg L ⁻¹) COM SEUS RESPECTIVOS ÍONS DE QUANTIFICAÇÃO NO MODO <i>SPLITLESS</i>	66
FIGURA 18: BARRAS RECOBERTAS COM HIDROGEL DE PVOH 30% (m/v) E PECTINA 2,0% (m/v) (A) E PVOH 20 % (m/v) E ZEÍNA NA PROPORÇÃO 99:1 (m/m) (B)	66
FIGURA 19: BARRAS COM CRIOGEL DE PVOH NA CONCENTRAÇÃO 10% (m/v) SEM ÁCIDO CÍTRICO (A) E COM ÁCIDO CÍTRICO (B)	68
FIGURA 20: BARRAS DE CRIOGEL DE PVOH E PECTINA NAS CONCENTRAÇÕES DE, RESPECTIVAMENTE, 10% E 1,0% (m/v) (A), 30% E 2,0% (m/v) (B), DE PVOH 10% COM ALGINATO DE SÓDIO 2,0% (m/v) (C) OU ALGINATO SÓLIDO NA PROPORÇÃO 98:2 (m/m) (D)	69
FIGURA 21: BARRAS DE CRIOGEL CONSTITUÍDOS POR PVOH 10% m/v E ZEÍNA NA PROPORÇÃO 97:3 (m/m) SEM (A) E COM ÁCIDO CÍTRICO (B)	70
FIGURA 22: GRÁFICO DA MÉDIA NORMALIZADA DA ÁREA DE PICO (N=3) DOS ANALITOS	72
FIGURA 23: ESTRUTURAS QUÍMICAS DO 3,5,6-TRICLORO-2-PIRIDINOL (A), SEU TAUTÔMERO (B) E ESPÉCIE DESPROTONADA (C)	74
FIGURA 24: GRÁFICO DA MÉDIA NORMALIZADA DA ÁREA DE PICO (N=3) DOS ANALITOS (2,0 mg L ⁻¹) APÓS SBSE COM CRIOGÉIS P10 E P20	75
FIGURA 25: GRÁFICO DA MÉDIA NORMALIZADA DA ÁREA DE PICO (N=3) DOS ANALITOS (2,0 mg L ⁻¹) APÓS SBSE COM CRIOGÉIS DE ALG E Z	76
FIGURA 26: GRÁFICO DA MÉDIA DA ÁREA DE PICO (N=3) DOS ANALITOS (2,0 mg L ⁻¹) APÓS EXTRAÇÃO POR SBSE COM FASES DE CRIOGEL P10, P10A1, P10A2, P10P1 E P10P2	78

FIGURA 27: GRÁFICO DA MÉDIA DA ÁREA DE PICO (N=3) DE CADA ANALITO (2,0 mg L ⁻¹) APÓS EXTRAÇÃO POR SBSE COM CRIOGÉIS P10Z 99:1; 98:2 E 97:3 (m/m)	79
FIGURA 28: GRÁFICO DA MÉDIA DA ÁREA DE PICO (N=3) DO EPB (5,0 mg L ⁻¹) APÓS SBSE.....	80
FIGURA 29: GRÁFICO DA MÉDIA DA ÁREA DE PICO (N=3) APÓS EXTRAÇÃO SBSE COM CRIOGEL P10Z E TRÊS DESSORÇÕES CONSECUTIVAS.....	82
FIGURA 30: GRÁFICO DA MÉDIA DA ÁREA DE PICO (N=3) DOS ANALITOS (5,0 mg L ⁻¹) APÓS QUATRO EXTRAÇÕES SBSE CONSECUTIVAS COM CRIOGEL P10A2 E P10P2	83
FIGURA 31: GRÁFICO DA MÉDIA DA ÁREA DE PICO (N=3) DOS ANALITOS (5,0 mg L ⁻¹) APÓS CINCO EXTRAÇÕES SBSE CONSECUTIVAS COM CRIOGEL P10Z	84
FIGURA 32: GRÁFICO DA MÉDIA DA ÁREA DE PICO (N=3) DOS ANALITOS (1,5 mg L ⁻¹) APÓS EXTRAÇÃO POR SBSE COM CRIOGÉIS EM ÁGUA ULTRAPURA E EM FÓRMULA INFANTIL SIMULANDO LEITE MATERNO	86
FIGURA 33: GRÁFICO DA MÉDIA DA ÁREA DE PICO (N=3) DOS ANALITOS (1,5 mg L ⁻¹) APÓS SBSE COM CRIOGÉIS EM PLASMA HUMANO SIMULADO	88
FIGURA 34: GRÁFICO DA MÉDIA DA ÁREA DE PICO (N=3) DOS ANALITOS (1,5 mg L ⁻¹) APÓS SBSE EM ÁGUA ULTRAPURA E EM PLASMA HUMANO SIMULADO	88
FIGURA 35: GRÁFICO DA MÉDIA DA ÁREA DE PICO (N=3) DOS ANALITOS (1,5 mg L ⁻¹) APÓS EXTRAÇÃO POR SBSE COM CRIOGÉIS EM ÁGUA ULTRAPURA E EM URINA SIMULADA	90
FIGURA 36: GRÁFICO DA MÉDIA DA ÁREA DE PICO (N=3) DOS ANALITOS (1,5 mg L ⁻¹) APÓS EXTRAÇÃO POR SBSE COM CRIOGÉIS EM ÁGUA ULTRAPURA E EM SALIVA SIMULADA.....	92
FIGURA 37: GRÁFICO DA MÉDIA DA ÁREA DE PICO (N=3) DOS ANALITOS (1,5 mg L ⁻¹) APÓS EXTRAÇÃO POR SBSE COM CRIOGÉIS EM ÁGUA ULTRAPURA E ÁGUA DE ABASTECIMENTO	94

FIGURA 38: GRÁFICO DA MÉDIA NORMALIZADA DA ÁREA DE PICO (N=3) DOS ANALITOS (1,5 mg L ⁻¹) APÓS SBSE COM CRIOGÉIS EM ÁGUA ULTRAPURA E ÁGUA SUPERFICIAL	95
FIGURA 39: GRÁFICO DO GRAU DE INTUMESCIMENTO (%), EM ÁGUA ULTRAPURA, ATÉ 1440 MINUTOS DE DISPOSITIVOS SBSE COM CRIOGÉIS.....	97
FIGURA 40: GRÁFICO DO GRAU DE INTUMESCIMENTO (%) DOS CRIOGÉIS EM ÁGUA ULTRAPURA ATÉ 1440 MINUTOS	98
FIGURA 41: GRÁFICO DO GRAU DE INTUMESCIMENTO (%) DOS CRIOGÉIS EM SALIVA SIMULADA E EM METANOL ATÉ 1600 MINUTOS DOS CRIOGÉIS.....	101
FIGURA 42: GRÁFICO DA MÉDIA DA ÁREA DE PICO (N=3) DOS ANALITOS (5 mg L ⁻¹) APÓS EXTRAÇÃO POR SBSE COM CRIOGÉIS SEM INTUMESCIMENTO E INTUMESCIDOS APÓS 2 E 24 HORAS.....	103
FIGURA 43: ESPECTROS FTIR NO MODO ATR DOS CRIOGÉIS	105
FIGURA 44: MICROGRAFIA DOS CRIOGÉIS P10 (A– 1000x), P10A2 (B -974x), P10P2 (C-1000x); P10Z (D-1000x) APÓS PROCESSO DE LIOFILIZAÇÃO	107
FIGURA 45: MICROGRAFIAS DOS CRIOGÉIS P10 (A – 1000x), P10A2 (B -1000x), P10P2 (C-1000x); P10Z(D-1000x) APÓS PROCESSO DE TROCA DE SOLVENTE	108
FIGURA 46: BARRA DE VIDRO RECOBERTA COM CRIOGEL DE PVOH 10% (m/v) E APRESENTAÇÃO DE REGIÕES DISTINTAS “A” (TOPO DO DISPOSITIVO) E “B” (RECOBRIMENTO DA BARRA DE VIDRO)..	109
FIGURA 47: MICROGRAFIA DOS CRIOGÉIS P10 (A – 1000x), P10A2 (B -15000x), P10P2 (C-1000 e 15000x); P10Z (D-1000x) NA REGIÃO “A” APÓS PONTO CRÍTICO.....	110
FIGURA 48: MICROGRAFIA DOS CRIOGÉIS P10P2 (A-1000 e 8000x) e P10Z (B- 1000 e 5000x) NA SEÇÃO TRANVERSAL DA REGIÃO “A” APÓS PONTO CRÍTICO.....	111
FIGURA 49: MICROGRAFIA DOS CRIOGÉIS P10 (A – 1000 e 5000x), P10A2 (B - 1000 e 15000x), P10P2 (C-1000 e 15000x); P10Z (D-1000 e 5000x) NA REGIÃO “B” APÓS PONTO CRÍTICO	112

FIGURA 50: MÉDIA DO ÂNGULO DE CONTATO (N=3) DE GOTAS DE ÁGUA DESTILADA SOB A SUPERFÍCIE DOS CRIOGÉIS P10, P10A2, P10P2 E P10Z NA PROPORÇÃO DE 97:3 (m/m).....	113
---	-----

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - INFORMAÇÕES E CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DOS ANALITOS	44
TABELA 2 - TRABALHOS COM DETERMINAÇÃO DOS ANALITOS EM AMOSTRAS BIOLÓGICAS E AMBIENTAIS	49
TABELA 3 – REAGENTES E CONCENTRAÇÃO APROXIMADA PARA PREPARO DE FLUIDOS SIMULADOS.....	59
TABELA 4 –ÍONS SELECIONADOS APÓS DERIVATIZAÇÃO	65
TABELA 5 - COMPOSIÇÃO, ADERÊNCIA AO VIDRO E ESTABILIDADE DE CRIOGÉIS PREPARADOS	68
TABELA 6 – COMPOSIÇÃO POLIMÉRICA E CONCENTRAÇÃO DE AGENTE RETICULANTE DOS CRIOGÉIS SELECIONADOS	71
TABELA 7 – DIFERENTES MATRIZES AVALIADAS E RESPECTIVOS VALORES DE pH MEDIDOS APÓS PREPARO	85
TABELA 8 – EFEITO MATRIZ DA SBSE EM LEITE MATERNO SIMULADO COMPARANDO COM ÁGUA ULTRAPURA.....	86
TABELA 9 – EFEITO MATRIZ DA SBSE EM PLASMA SIMULADO COMPARANDO COM ÁGUA ULTRAPURA	87
TABELA 10 – EFEITO MATRIZ DA SBSE EM URINA SIMULADA COMPARANDO COM ÁGUA ULTRAPURA	90
TABELA 11 – EFEITO MATRIZ DA SBSE EM SALIVA SIMULADA COMPARANDO COM ÁGUA ULTRAPURA	92
TABELA 12 – EFEITO MATRIZ DA SBSE EM ÁGUA DE ABASTECIMENTO COMPARANDO COM ÁGUA ULTRAPURA	93
TABELA 13 – EFEITO MATRIZ DA SBSE EM ÁGUA SUPERFICIAL COMPARANDO COM ÁGUA ULTRAPURA	96

LISTA DE ABREVIATURAS OU SIGLAS

Alg - Alginato de sódio;

ANOVA- Análise de Variância (*Analysis of Variance*);

ATZ - Atrazina - 2-cloro-4-etilamino-6-isopropilamino-triazina;

BPB – Butilparabeno;

BSA - Albumina bovina sérica (*Bovine Serum Albumine*);

CME - Centro de microscopia da UFPR;

CPF- Clorpirifós - O,O-dietil O-3,5,6-tricloropiridin-2-ol fosforotioato;

DLLME - Microextração Líquido-Líquido Dispersiva (*Dispersive Liquid-Liquid Microextraction*);

DOM - Matéria Orgânica Dissolvida (*Dissolved Organic Matter*);

EDC – Interferentes Endócrinos (*Endocrine Disruptors Chemicals*);

EF - Efeito matriz;

EPB- Etilparabeno;

Fe₃O₄@silano - Compósito de magnetita recoberto com silano;

MIL-DLLME - DLLME com líquido iônico magnético (*Magnetic Ionic Liquid*);

FTIR - Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (*Fourier Transform Infrared Spectroscopy*);

G - ácido α -L-gulurônico;

GalA - ácido galacturônico;

GC/MS - Cromatografia Gasosa Acoplada à Espectrometria de Massas (*Gas Chromatography coupled to Mass Spectrometry*);

GC-MS/MS - Cromatografia Gasosa Acoplada à Espectrometria de Massas Sequencial (*Gas Chromatography coupled to Tandem Mass Spectrometry*);

GI- Grau de Intumescimento;

GM - Grau de Esterificação;

HF-LPME – Microextração em Fase Líquida com Fibra Oca (*Hollow Fiber - Liquid Phase Microextraction*);

HG - Homogalacturonana;

HM – Alto grau de esterificação (*High Methoxyl*);

HPA - Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos;

LC - Cromatografia líquida (*Liquid Chromatography*);

LC-MS/MS - Cromatografia Líquida Acoplada à Espectrometria De Massas Sequencial (*Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry*);

LDS-VSLLME-SFO: sem tradução (*Low-Density Solvent-Based Vortex-Assisted Surfactant-Enhanced-Emulsification Liquid-Liquid Microextraction With The Solidification Of Floating Organic Droplet*);

LLE - Extração Líquido-Líquido (*Liquid-Liquid Extraction*);

LM - Baixo Grau De Esterificação (*Low Methoxyl*);

M - ácido β - D- manurônico;

MDMSPE - Extração Magnética Dispersiva Em Fase Microsólida (*Magnetic Dispersive Micro-Solid Phase Extraction*);

MeOH - Metanol;

MEV - Microscopia Eletrônica De Varredura;

HS-SPME - Microextração em Fase Sólida com Headspace (*Headspace- Solid Phase Microextraction*);

MIP - Polímero Molecularmente Impresso (*Molecularly Imprinted Polymer*);

MON - rede orgânica microporosa (*Microporous Organic Network*);

MPB - Metilparabeno;

OMS - Organização mundial de Saúde (*World Health Organization*);

PDMS - poli(dimetilsiloxano);

Pec - Pectina Cítrica;

PEDOT - (3,4-etilenodioxitiofeno);

PEI-CNFs@CP - sem tradução [*Poly(Ethyleneimine)-Functionalized Carbon Nanofibers Coated Cellulose Paper*];

PP - poli (propileno);

PPB - Propilparabeno;

PPT - Precipitação de proteínas;

PVA - poli (acetato de vinila);

PVOH - poli (álcool vinílico)

RG - I e II - Ramnogalacturonana dos tipos I e II;

rGO/Mg-Al LDH: sem tradução (*Magnesium-Aluminum Layered Double Hydroxide Coated on Graphene Oxide Nanocomposite*);

SBSE - Extração Sortiva em Barra de Agitação (*Stir Bar Sorptive Extraction*);

SIM - Monitoramento Seletivo de Íons (*Selected Ion Monitoring*);

SPE - Extração em Fase Sólida (*Solid Phase Extraction*);

SPME - Microextração em Fase Sólida (*Solid Phase Microextraction*);

TCP - 3,5,6 – tricloro- 2 piridinol;

UPLC-MS/MS: Cromatografia Líquida de Ultra Alta Eficiência (*Ultra High Performance Liquid Chromatography*);

Z – zeína.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	22
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	24
2.1 TÉCNICAS DE PREPARO DE AMOSTRA	24
2.1.1 Extração sortiva em barra de agitação (SBSE)	25
2.2 GÉIS: HIDROGEL E CRIOGEL.....	26
2.2.1 Poli (álcool vinílico) - PVOH	28
2.2.2 Alginato de sódio.....	30
2.2.3 Pectinas.....	31
2.2.4 Zeína	33
2.2.5 Aplicação de hidro e criogéis como fase sortiva.....	35
2.3 MONITORAMENTO DE MATRIZES BIOLÓGICAS E AMBIENTAIS	37
2.3.1 Fluidos biológicos humanos	37
2.3.1.1 Plasma.....	38
2.3.1.2 Urina	39
2.3.1.3 Leite materno.....	39
2.3.1.4 Saliva.....	40
2.3.1.5 Fluidos biológicos simulados	41
2.3.2 Corpos aquáticos ambientais	42
2.4 DESREGULADORES ENDÓCRINOS	43
2.4.1 Agrotóxicos.....	45
2.4.2 Conservantes: parabenos	46
2.5 DETERMINAÇÃO DE AGROTÓXICOS E CONSERVANTES EM MATRIZES BIOLÓGICAS E AMBIENTAIS	48
3 OBJETIVOS.....	51
3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	51
4 MATERIAIS E MÉTODOS	52
4.1 PADRÕES ANALÍTICOS E REAGENTES	52
4.2 BARRAS DE AGITAÇÃO COM FASE SORVENTE BASEADA EM GÉIS	53
4.2.1 HIDROGEL E CRIOGEL	53
4.2.1.1 Géis de PVOH	54
4.2.1.2 Géis de PVOH/ Pectina e PVOH/Alginato	55
4.2.1.3 Géis de PVOH com zeína ou alginato de sódio em pó.....	56
4.3 ENSAIOS DE EFICIÊNCIA DE SORÇÃO	57

4.4 EFEITO MATRIZ (EF)	58
4.4.1 Fluidos biológicos simulados	58
4.4.1.1 Fórmula infantil	58
4.4.1.2 Plasma, urina e saliva	59
4.4.2 Corpos aquáticos	60
4.4.2.1 Águas superficiais e de abastecimento	60
4.5 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA	60
4.5.1 Grau de intumescimento	60
4.5.2 Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)	61
4.5.3 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	61
4.5.4 Ângulo de contato	62
4.6 CROMATOGRAFIA GASOSA ACOPLADA À ESPECTROMETRIA DE MASSAS	
62	
4.7 DERIVATIZAÇÃO	62
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	64
5.1 CONDIÇÕES CROMATOGRÁFICAS	64
5.2 BARRAS DE AGITAÇÃO COM FASE SORVENTE BASEADA EM GÉIS	66
5.2.1 Hidrogéis	66
5.2.2 Criogéis	67
5.2.2.1 Criogéis de PVOH	68
5.2.2.2 Criogéis de PVOH/ Pectina e PVOH/Alginato	69
5.2.2.3 Criogéis de PVOH/ Zeína	69
5.3 ENSAIOS DE EXTRAÇÃO	71
5.3.1 Eficiência de extração de diferentes composições poliméricas	71
5.3.2 Eficiência de extração de cada analito	73
5.3.3 Efeito da concentração do poli (álcool vinílico)	75
5.3.4 Efeito da concentração de alginato e pectina	77
5.3.5 Efeito da proporção entre poli (álcool vinílico) e zeína	79
5.3.6 Investigação do comportamento sortivo	80
5.3.7 Dessorções consecutivas	81
5.3.8 Reutilização dos dispositivos SBSE	82
5.4 EFEITO MATRIZ (EM)	84
5.4.1 Fluidos biológicos simulados	85
5.4.1.1 Fórmula infantil (leite materno)	85

5.4.1.2 Plasma.....	87
5.4.1.3 Urina	90
5.4.1.4 Saliva.....	91
5.4.2 Corpos aquáticos	93
5.4.2.1 Água de abastecimento	93
5.4.2.2 Água superficial	94
5.5 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA.....	96
5.5.1 Grau de intumescimento	96
5.5.2 Influência do intumescimento na eficiência de extração.....	102
5.5.3 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR).....	104
5.5.4 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	106
5.5.5 Ângulo de contato	113
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS E CONCLUSÃO.....	115
REFERÊNCIAS.....	117

1 INTRODUÇÃO

Em diversas áreas é encontrada a necessidade da determinação de compostos orgânicos em diferentes matrizes. O objetivo pode ser a extração e quantificação de fármacos em amostras biológicas para monitorização terapêutica (MUELLER-SCHOELL et al., 2021), de substâncias de interesse forense para investigação de óbitos e crimes (GERALDO et al., 2022) ou de contaminantes em compartimentos ambientais como amostras de águas (RICHARDSON; KIMURA, 2020), dentre muitos outros. Entretanto, essas substâncias orgânicas estão comumente presentes em amostras de elevada complexidade e em baixas concentrações, o que torna essencial o desenvolvimento de metodologias adequadas (COELHO et al., 2022).

Tendo em vista as propostas da Química Analítica Verde, a tendência tem sido a aplicação de técnicas miniaturizadas de preparo de amostra com uso reduzido de solventes e amostra, além de emprego de reagentes seguros e não tóxicos. Também há o intuito de utilização de reagentes obtidos por fontes renováveis e sustentáveis, inclusive evitando o desperdício e geração de resíduos (GALUSZKA; MIGASZEWSKI; NAMIESNIK, 2013; LÓPEZ-LORENTE et al., 2022). Uma alternativa para sorção de contaminantes em amostras aquosas tem sido o emprego de géis poliméricos denominados hidrogéis. Esses materiais trazem diversas vantagens como o emprego de polímeros naturais ou sintéticos, como alginato de sódio e poli (álcool vinílico) os quais são considerados de baixa toxicidade e biocompatíveis (ABKA-KHAJOUei et al., 2022; MOK et al., 2020). Outros polímeros podem, inclusive, serem obtidos de fontes renováveis e como sub ou co-produtos industriais como a pectina e a zeína (KASAAI, 2018; MENEGUZZO et al., 2019).

Os hidrogéis possuem a característica de capacidade de absorção de água sem que ocorra a desintegração da rede polimérica e podem ser sinterizados em diferentes formatos (discos, filmes, esferas, fibras, entre outros), contemplando uma grande variedade de técnicas de preparo de amostra. Além disso, por possuírem diversos sítios hidrofílicos (SAMPAIO et al., 2022), podem ter interação com compostos orgânicos polares, o que tem sido um desafio analítico principalmente quando em matrizes aquosas.

Entretanto, ainda é relativamente recente o interesse de aplicação desses materiais como fases sortivas, principalmente para análise de matrizes biológicas. Verifica-se então a demanda de estudos que apliquem esses materiais tanto em

amostras biológicas quanto ambientais, de forma a investigar a influência da composição da matriz no processo sortivo (pH, proteínas, óleos, matéria orgânica etc.), além de expandir as áreas (alimentícia, clínica, tratamento de resíduos, farmacêutica, por exemplo) nas quais o material pode ser aplicado.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 TÉCNICAS DE PREPARO DE AMOSTRA

Uma das etapas iniciais, e fundamentais, do procedimento analítico é a do preparo da amostra. Os objetivos são, dentre outros, os de remover possíveis interferentes na matriz, extração das substâncias de interesse, além de obter um fator de enriquecimento de forma a possibilitar o alcance de menores limites de detecção e quantificação (COSTA, 2014; SMITH, 2003). Contudo, considera-se que esse processo corresponde a uma das maiores fonte de erros do percurso analítico, além de consumir cerca de dois terços do tempo dispensado em uma análise química (PAN et al., 2014; R.E.MAJORS, 1991; ULLAH; TUZEN, 2022).

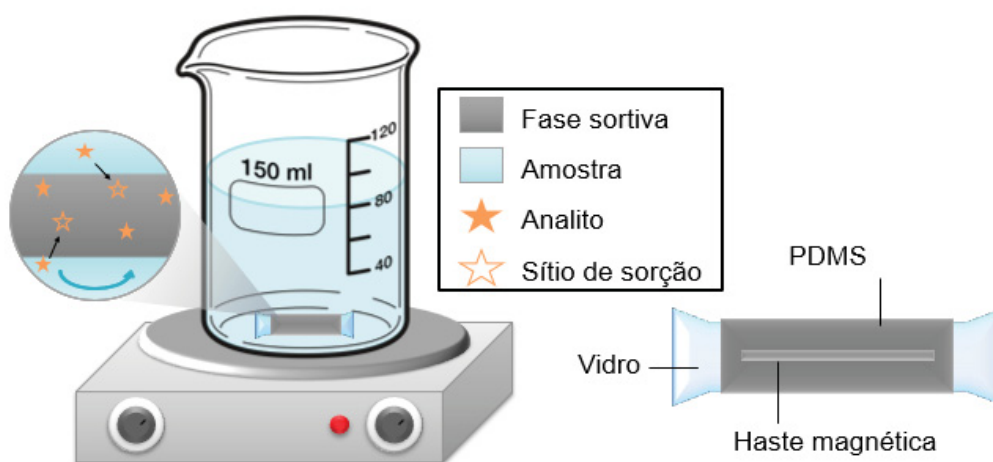
Dentre as técnicas comumente empregadas no preparo de amostra estão as de extração, como as convencionais extrações líquido-líquido (LLE – *liquid-liquid extraction*) e em fase sólida (SPE – *solid phase extraction*) (AUGUSTO et al., 2013). Entretanto, tem-se convergido no desenvolvimento e aplicação de técnicas de extração com menores volumes de amostras e quantidades mínimas de solventes orgânicos tóxicos, proporcionando aumento de seletividade e redução da operação manual (CHAVES; QUEIROZ, 2008; SONG; HUANG, 2022). Isso vai ao encontro dos preceitos da Química Analítica Verde de, por exemplo, redução de resíduos, automação e miniaturização da metodologia, além de aumento da segurança do operador (GALUSZKA; MIGASZEWSKI; NAMIESNIK, 2013; LÓPEZ-LORENTE et al., 2022).

Neste contexto foram desenvolvidas as técnicas miniaturizadas tanto em fase líquida quanto em fase sólida. Dentre as de fase líquida tem-se, por exemplo, a microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME – *dispersive liquid-liquid microextraction*) e a microextração em fase líquida com fibra oca (HF-LPME - *hollow-fiber liquid-phase microextraction*). No caso das estratégias baseadas em fase sólida destacam-se a microextração em fase sólida (SPME – *solid phase microextraction*) além da extração sortiva em barra de agitação (SBSE – *stir bar sorptive extraction*) (BURATO et al., 2020; MARTINS et al., 2021; ULLAH; TUZEN, 2022) sendo essa última de grande aplicação atualmente (DAVID; OCHIAI; SANDRA, 2019; HE et al., 2021).

2.1.1 Extração sortiva em barra de agitação (SBSE)

A SBSE foi introduzida por Baltussen e colaboradores (BALTUSSEN et al., 1999) no final da década de 1990 e comercializada por Gerstel (Mülheim, Alemanha) sob o nome “Twister” (SÁNCHEZ-ROJAS; BOSCH-OJEDA; CANO-PAVÓN, 2009). Nessa técnica, conforme demonstrado na FIGURA 1, uma barra magnética (tubo magnético encapsulado com vidro) é revestida com uma fase sortiva, comumente poli (dimetilsiloxano) (PDMS) (DAVID; OCHIAI; SANDRA, 2019).

FIGURA 1: REPRESENTAÇÃO DO DISPOSITIVO E DO PROCESSO DE EXTRAÇÃO EMPREGADO NA SBSE COM FASE SORTIVA DE POLI (DIMETILSILOXANO) (PDMS)



FONTE: Grupo CroMe - Beatriz Cestaro (2020)

A extração baseia-se no equilíbrio de partição do soluto entre a amostra e a fase extratora, sendo, em seguida, realizada a etapa de dessorção destes analitos (CALDAS; GONÇALVES; PRIMEI, 2011; HE et al., 2021). Esta última pode ser realizada diretamente em um injetor de um sistema cromatográfico em fase gasosa (dessorção térmica) ou de modo líquido por meio de pequenos volumes de solvente orgânico (DAVID; OCHIAI; SANDRA, 2019; NOGUEIRA, 2015).

Algumas vantagens da SBSE que se destacam são resultados de boa reprodutibilidade, facilidade de manipulação por se tratar de um dispositivo simples, não utilização de solvente orgânico na etapa de sorção e quantidades mínimas de solvente na etapa de dessorção quando no modo líquido (HE et al., 2021; SÁNCHEZ-ROJAS; BOSCH-OJEDA; CANO-PAVÓN, 2009).

Parâmetros como tempo e temperatura de extração, pH da amostra, efeito da adição de sal (“*salting out*”), velocidade de agitação, volume de amostra, tempo de dessorção, dentre outros, também podem ser levados em consideração para

obtenção de maior eficiência de extração. Além disto, no caso em que a dessorção é realizada de modo térmico, tem-se também a avaliação da temperatura dessa etapa, enquanto no modo líquido de dessorção deve-se considerar também o tipo e volume de solvente orgânico (GILART et al., 2014).

Apesar de comercialmente ainda serem encontradas poucas opções de fases SBSE – a de PDMS (PDMS Twister®) ou a de poli (etilenoglicol) modificado com silicone (EG Silicone Twister®) – são relatados diversos trabalhos com aplicações dos dispositivos comerciais em diferentes matrizes. Alguns exemplos são para a determinação dos compostos voláteis de molhos de soja (DIEZ-SIMON et al., 2021) e de vinhos tintos (TANG et al., 2020), além de diversas classes de contaminantes orgânicos em amostras de águas residuais (MURRELL; DORMAN, 2021), alcalóides na casca de maracujá (COLOMBO, 2019) e produtos de reação e degradação em bebidas de café (GIGL et al., 2022).

Entretanto, a aplicação das fases comerciais ainda pode apresentar limitações para extração de compostos mais polares (DAVID; OCHIAI; SANDRA, 2019; GILART et al., 2014) além do custo elevado para aquisição dos dispositivos. Em função disso, observa-se a tendência de desenvolvimento de novas fases extratoras para SBSE aplicando, por exemplo: óxido de grafeno reduzido revestindo espuma porosa de níquel (ZHANG et al., 2021a), nanocompósito de nanopartículas de prata e nylon-6 (AYAZI; SHEKARI ESFAHLAN, 2021), rede orgânica microporosa (MON -microporous organic network) funcionalizada com carboxila (HAN et al., 2021), polímeros molecularmente impressos (MIP – molecularly imprinted polymer) (SORRIBES-SORIANO et al., 2023), dentre várias outras (HE et al., 2021).

Assim, tem-se o interesse no desenvolvimento de novas fases sorventes para SBSE que atendam aos requisitos de maior polaridade e estabilidade mecânica, possibilitando a extração de solutos mais polares em amostras aquosas (GILART et al., 2014). Neste caso, materiais como hidrogel e o hidrogel/criogel podem ser interessantes alternativas de fases para aplicação em diferentes matrizes.

2.2 GÉIS: HIDROGEL E CRIOGEL

Géis poliméricos caracterizam-se como sistemas polímero-solvente com a formação de uma rede tridimensional elástica constituída por macromoléculas ou agregados tendo a capacidade de retenção de grandes volumes de solventes (ROGOVINA; VASIL'EV; BRAUDO, 2008). Esse material pode ter a capacidade de

responder ao meio de acordo com a temperatura, pH ou força iônica, apresentando mudanças com relação ao intumescimento ou colapso da rede (OSADA; GONG, 1998).

Diversas classificações de géis poliméricos podem ser encontradas baseando-se, por exemplo, na natureza da ligação entre as cadeias (reversível ou irreversível), no solvente empregado (hidrogéis, oleogéis), tamanho (macro, micro e nanogéis) ou presença de partículas magnéticas (ferrogéis) (AWASTHI, 2021; DICKINSON, 2015; ECHEVERRIA et al., 2018; LOZINSKY et al., 2003; VIJAYAN; VASUDEVAN; THOMAS, 2019; WEEBER et al., 2018). Outros tipos de categorização são fundamentadas na resposta do gel a estímulos como pH, temperatura e força iônica (responsivos), à carga elétrica da rede polimérica (não iônico, aniônico, catiônico, anfótero ou zwitteriônico) ou, ainda, à temperatura de reticulação (criogéis) (ANDRADE et al., 2021; DARBAN et al., 2022; KHATRI et al., 2020).

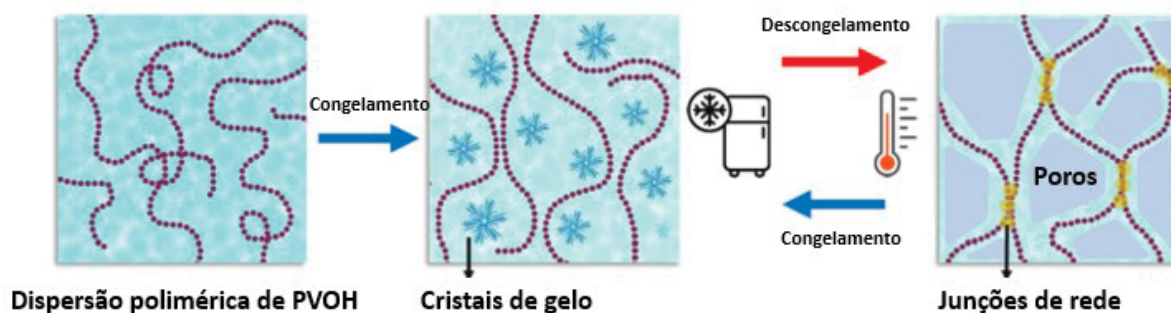
Um grande destaque é dado aos denominados hidrogéis uma vez que apresentam uma rede, seja natural ou sintética, capaz de absorver e reter grandes volumes de água sem que ocorra a desintegração (BRITO et al., 2013). Isso faz com que tenham aplicabilidade em diversas áreas como a clínica, farmacêutica e de alimentos, atuando como materiais de liberação controlada de fármacos e nutrientes, de imobilização e encapsulação ou até mesmo em embalagens (ECHEVERRIA et al., 2018; LI; JIA; YIN, 2021; MOREIRA et al., 2014).

Quando preparados em condições abaixo do ponto de congelamento do solvente da dispersão polimérica, os hidrogéis podem ser denominados como criogéis (LOZINNSKY et al., 2003; LOZINSKY, 2018). Nesse caso, a dispersão polimérica aquosa é submetida a baixas temperaturas por tempo suficiente para congelamento do solvente e formação de cristais de gelo. Depois o sistema é deixado em temperatura ambiente por um determinado período para descongelamento dos cristais, repetindo-se o ciclo de congelar e descongelar por determinadas vezes (sendo encontrado na literatura a partir de 3 vezes) (ADELNIA et al., 2022; JONES et al., 2021).

Os cristais do solvente do meio atuam como formadores de poros, atribuindo a característica de macroporosidade que pode ser observada frequentemente em criogéis (PLLEVA; GALAEV; MATTIASSON, 2007). Além disso, esses cristais facilitam a aproximação das cadeias poliméricas, permitindo interações entre elas e criando pontos de junção, conforme apresentado na FIGURA 2 com exemplo de gel

de PVOH (ADELNIA et al., 2022; JONES et al., 2021). Dessa forma, o método de congelamento/descongelamento também é considerado como uma forma de reticulação.

FIGURA 2: REPRESENTAÇÃO DA FORMAÇÃO DE UM CRIOGEL



FONTE: Adaptado de Adelnia et al., (2022)

Diversos fatores podem influenciar as características do hidrogel/ criogel obtido (como tamanho de poro e propriedades mecânicas). Alguns exemplos são a massa molar do polímero, as taxas de congelamento e descongelamento, o número de ciclos ou reticulação (BABANEJAD et al., 2023). Neste último, têm-se que os cristais de gelo podem aproximar as cadeias poliméricas, facilitando a reticulação física da rede tridimensional, mas também podem ser aplicados agentes precursores que permitam ligações covalentes (ADELNIA et al., 2022; JONES et al., 2021).

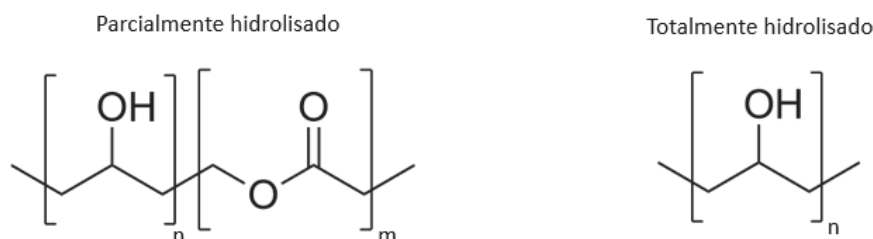
Serão apresentados a seguir, sucintamente, polímeros aplicados neste trabalho para a síntese de hidrogéis. Ademais, no decorrer do texto os géis sintetizados em condições de congelamento (hidrogel/criogel) serão denominados apenas como criogel.

2.2.1 Poli (álcool vinílico) - PVOH

Um dos polímeros mais comumente empregados para síntese de hidro e criogéis é o poli (álcool vinílico) (PVOH). Trata-se de um polímero sintético hidrofílico não iônico produzido a partir da hidrólise do poli (acetato de vinila) (PVA) (ADELNIA et al., 2022). Dependendo do grau em que ocorre essa hidrólise diferentes propriedades são obtidas, sendo classificados dentro da faixa de parcialmente à totalmente hidrolisado (FIGURA 3).

Enquanto o parcialmente hidrolisado, de forma geral, pode ser solubilizado em água sob temperatura ambiente, o obtido após hidrólise total exige aquecimento da água (80 a 90 °C) para solubilização (KUMAR; SOOD; HAN, 2022).

FIGURA 3: ESTRUTURAS QUÍMICAS DO PVOH PARCIALMENTE E TOTALMENTE HIDROLISADO



FONTE: Mok et al., (2020)

Destacam-se características do PVOH como baixa toxicidade, biocompatibilidade, habilidade de formar filmes, alta capacidade de absorção de água e potencial de adsorção pela presença abundante de hidroxilas (MOK et al., 2020; WANG et al., 2021). Além disso, a reticulação para formação de géis pode ser realizada tanto de reversível ou irreversível, empregando agentes reticulantes como glutaraldeído e ácido cítrico ou condições de congelamento e descongelamento (ADELNIA et al., 2022; RODRÍGUEZ-RODRÍGUEZ et al., 2020).

Há também a versatilidade do PVOH para formação de blendas e compósitos com outros polímeros e substâncias. Alguns exemplos são biopolímeros como alginato de sódio (FANG et al., 2023), pectina (HU et al., 2022; OH et al., 2022), zeína (LIN et al., 2023) e quitosana (HIZAL; KANMAZ; YILMAZOĞLU, 2023) ou compostos como magnetita (KUSHWAHA; CHAUHAN, 2023), óxido de grafeno (RASYIDA et al., 2023), óxido de zinco (ABUBSHAIT et al., 2023; CAVALCANTE et al., 2023), hidroxiapatita e zircônia (BIE et al., 2023), etc.

A vasta gama de aplicações deste polímero de forma isolada ou combinada pode ser encontrada para materiais ortopédicos (CHEN et al., 2023), remoção de corantes (SARKHEL et al., 2022), cicatrização de ferimentos (KENAWY et al., 2023), liberação controlada de fármacos (TEODORESCU; MORARIU, 2022), tratamento de doenças de pele (THAKUR et al., 2023), membranas de separação (VATANPOUR et al., 2023), embalagem de alimentos (YANG et al., 2023), adsorção de metais (PATEL; PANDEY; UPPALURI, 2023), entre muitas outras.

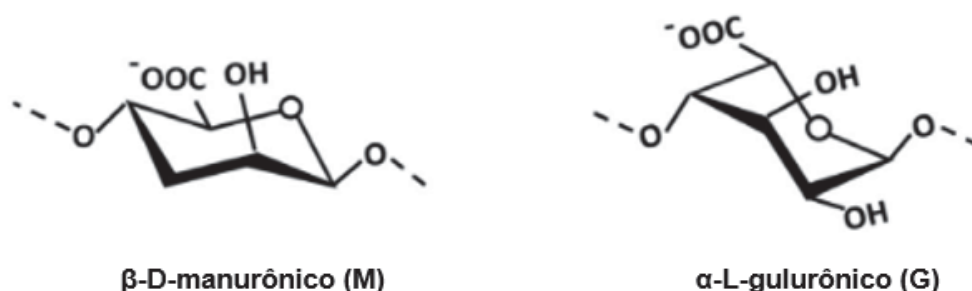
Neste trabalho foi realizada a combinação do PVOH com os biopolímeros alginato de sódio, pectina cítrica e zeína.

2.2.2 Alginato de sódio

Alginato é a denominação dada aos polissacarídeos naturais de estrutura linear obtidos da parede celular de diversas algas marinhas marrons ou de diferentes espécies de bactérias (FRENT et al., 2022). A fonte comercial é, principalmente, obtida das algas marinhas dos gêneros *Ascophyllum*, *Durvillaea*, *Ecklonia*, *Laminaria*, *Lessonia*, *Macrocystis* e *Saccharina* (ABKA-KHAJOUei et al., 2022; SANCHEZ-BALLESTER; BATAILLE; SOULAIROL, 2021), sendo que os alginatos são encontrados na forma de sais de magnésio, cálcio e sódio do ácido algínico (GARCIA-CRUZ; FOGGETTI; SILVA, 2008; SELLIMI et al., 2015). O processo de extração consiste na conversão do ácido algínico, o qual apresenta baixa solubilidade em água, para uma forma solúvel que, geralmente, é o alginato de sódio, seguido pela etapa de purificação (SELLIMI et al., 2015).

O sal sódico do ácido algínico é denominado alginato de sódio ($\text{NaC}_6\text{H}_7\text{O}_6$)_n, o qual consiste em um copolímero aniônico hidrofílico formado por unidades de ácidos β -D-manurônico (M) e α -L-gulurônico (G) (FIGURA 4) ligadas em 1-4. Estas ligações podem ser em blocos homopoliméricos como entre resíduos GG e MM ou heteropoliméricos com G e M alternados (CASTILHOS et al., 2017; FRENT et al., 2022; GAO et al., 2020; SAHOO; BISWAL, 2021).

FIGURA 4: MONÔMEROS β -D-MANURÔNICO (M) e α -L-GULURÔNICO (G) DO ALGINATO DE SÓDIO



FONTE: Adaptado de Ehsan et al., (2022)

De acordo com a fonte de obtenção e método de extração do alginato, são obtidas proporções distintas entre os três tipos de blocos (GG; MM ou GM) e, consequentemente, diferentes propriedades físico-químicas (FRENT et al., 2022; SANCHEZ-BALLESTER; BATAILLE; SOULAIROL, 2021). Porém, os alginatos apresentam propriedades de biocompatibilidade e biodegradabilidade, além de abundância de grupos hidroxila e carboxila que permitem a formação de ligações de

hidrogênio intramoleculares e capacidade de adsorção (ABKA-KHAJOU EI et al., 2022).

O pH possui grande influência em propriedades do alginato devido, principalmente, à presença dos grupos carboxila na estrutura. As unidades M e G apresentam valores de pKa de, respectivamente, 3,38 e 3,65 e, por isso, quando em condições de pH abaixo do pKa, os grupos protonados dos ácidos manurônico e gulurônico permitem ligações de hidrogênio intramoleculares (FERNANDO et al., 2020). Já em condições com pH mais elevado, a desprotonação dos grupos carboxila proporciona um caráter hidrofílico, além da ocorrência de repulsão eletrostática entre as cadeias do polímero (ABD EL-GHAFFAR et al., 2012; SHARMIN et al., 2021).

Para formação de géis pode ser realizado o controle do pH (para favorecer interações de hidrogênio) ou empregar agentes reticulantes. No primeiro caso, um exemplo é a utilização de cátions polivalentes como íons cálcio, magnésio ou alumínio (ZOU et al., 2020), sendo que o cálcio é o mais comumente utilizado e liga-se, preferencialmente, às unidades do ácido gulurônico, formando uma estrutura explicada pelo modelo popularmente conhecido como “egg box” (ABKA-KHAJOU EI et al., 2022; CHING; BANSAL; BHANDARI, 2017; FERNANDO et al., 2020).

Já outros exemplos de compostos reticulantes podem ser o glutaraldeído, ácido bórico e o ácido cítrico. O uso do ácido cítrico traz as vantagens de ser um composto natural considerado de baixo custo e não-tóxico (SAPUŁA; BIALIK-WĄS; MALARZ, 2023). A reticulação ocorre com a formação de ligações covalente entre as hidroxilas dos polissacarídeos e os grupos carboxilas do ácido cítrico (SHARMIN et al., 2021).

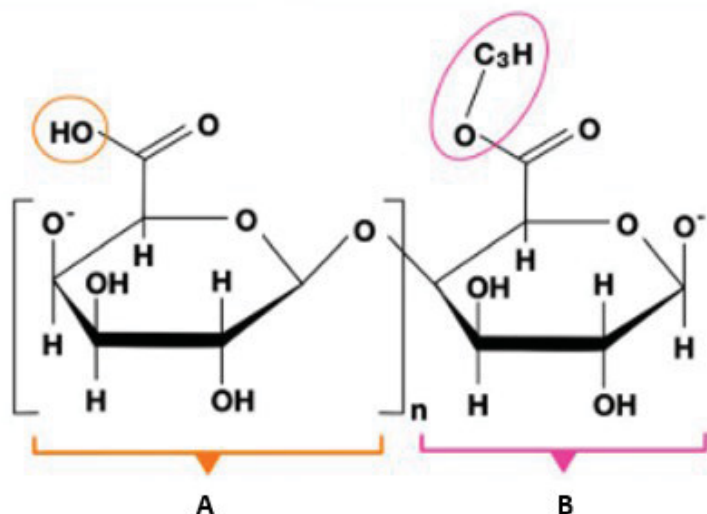
2.2.3 Pectinas

Pectinas são uma família de oligossacarídeos e polissacarídeos naturais que podem ser encontradas na polpa e casca de diversas frutas. Comercialmente são obtidas, principalmente, de frutas cítricas como laranja e limão a partir de resíduos da indústria alimentícia como a de produção de sucos (LARA-ESPINOZA et al., 2018; MENEGUZZO et al., 2019).

Apresentam uma estrutura bastante complexa formada majoritariamente por unidades de ácido galacturônico (FIGURA 5) com ligações glicosídicas 1-4. Três frações principais de polissacarídeos encontrados na pectina são homogalacturonana (HG) e ramnogalacturonanas do tipo I (RG-I) e II (RG-II), sendo HG o mais

abundante(CANTERI et al., 2012; LARA-ESPINOZA et al., 2018; WUSIGALE; LIANG; LUO, 2020).

FIGURA 5: ESTRUTURA DO ÁCIDO GALACTURÔNICO (A) E UNIDADE DE ÁCIDO GALACTURÔNICO METIL ESTERIFICADO (B)



FONTE: Adaptado de Blanco-Pérez et al., (2021)

As unidades de ácido galacturônico (GalA) na estrutura da pectina podem também apresentar carboxilas esterificadas com grupos metil (FIGURA 5 B) ou acetil. Unidades GalA com o grupo metil éster determinam o grau de esterificação (GM – também conhecido como grau de metil esterificação) deste polímero. A razão entre as unidades esterificadas e o total de unidades de ácido galacturônico permite a classificação de pectinas como de alto grau de esterificação (HM – high methoxyl) ou de baixo grau de esterificação (LM – low methoxyl) quando $GM > 50\%$ e $GM < 50\%$, respectivamente (CHEN et al., 2015; LOPES et al., 2017; WANG et al., 2019).

O grau de esterificação da pectina possui grande influência em diversos parâmetros como, por exemplo, a solubilidade e propriedades relacionadas à formação de géis (CHEN et al., 2015; LIU et al., 2022). Géis de pectinas HM podem ser formados em condições que favoreçam interações hidrofóbicas e de hidrogênio como as de alta concentração de açúcares (por reduzir a solvatação da cadeia polimérica com moléculas de água) e de pH abaixo do pKa do ácido galacturônico (entre 3,5 e 4,5) por reduzir a dissociação dos grupos metil éster e a desprotonação do GalA (GAWKOWSKA; JUSTYNA CYBULSKA; ARTUR ZDUNEK, 2018; LARA-ESPINOZA et al., 2018; WILLATS; KNOX; MIKKELSEN, 2006).

Já a reticulação quando há um baixo grau de esterificação é baseada na interação eletrostática dos grupos carboxilato (em condições de pH acima do pKa)

com cátions divalentes, como o íon cálcio, de maneira semelhante ao alginato de sódio no modelo “egg box” (LARA-ESPINOZA et al., 2018; MENEGUZZO et al., 2019).

2.2.4 Zeína

Um polímero considerado um co-produto industrial é a zeína, proteína da classe prolamina encontrada no endosperma dos grãos de milho e obtida quando as sementes são processadas para alimentação humana e animal, além de produtos agrícolas e combustível (KASAAI, 2018). Esse é um termo genérico que representa uma blenda de quatro proteínas que são α , β , γ e δ -zeína (JASKI et al., 2022). A diferenciação é realizada com base na sequência de aminoácidos, massa molar e solubilidade, sendo que a fração majoritária encontrada comercialmente é a α -zeína (cerca de 70-85%) (GAGLIARDI et al., 2020; GITERU; ALI; OEY, 2021).

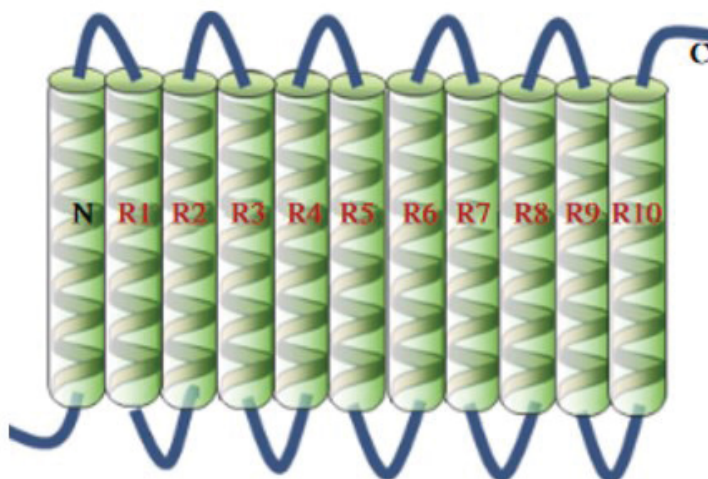
Comparada com outras proteínas, a zeína apresenta características distintas devido à grande presença de resíduos de aminoácidos hidrofóbicos como leucina (cerca de 19%), prolina (10%) e alanina (12%). Entretanto, também há a presença de aminoácidos com grupos polares como ácido glutâmico (20%) e glutamina. Também se destaca pelo fato de que resíduos como lisina e triptofano, comuns em outras proteínas, não são encontrados na zeína e outros como arginina e histidina estão em pequena quantidade (GITERU; ALI; OEY, 2021; TORTORELLA et al., 2021).

Essa composição singular faz com que a zeína seja insolúvel em água, e por isso considerada como hidrofóbica apesar de apresentar grupos hidrofílicos também (BOUMAN et al., 2016). Nesse caso, para obtenção de dispersões aquosas são utilizadas misturas com outros solventes como etanol, metanol e propanol (GITERU; ALI; OEY, 2021; JASKI et al., 2022). Outras condições de solubilização são em condições alcalinas (pH igual ou maior que 11) e na presença de detergentes aniônicos ou ureia (ABDELSALAM et al., 2021; GITERU; ALI; OEY, 2021).

Apesar de ter-se conhecimento a respeito da estrutura primária da zeína e seus respectivos grupos de aminoácidos, ainda não há consenso na literatura a respeito das demais estruturas das frações desta proteína. Diversos modelos já foram propostos para a α -zeína e, de forma geral, parece haver uma concordância na consideração de que há unidades helicoidais homólogas e repetidas que apresentam forma de bastão (ZHANG et al., 2021b).

No modelo proposto por Matsushima et al., (1997), por exemplo, considera-se que a α -zeína consiste em um arranjo de prisma retangular no qual unidades de conformação α -hélice homólogas e repetidas, em antiparalelo, são conectadas (ABDELSALAM et al., 2021). Essa conexão ocorre entre as extremidades hidrofílicas das hélices vizinhas, uma vez que apresentam resíduos de glutamina que podem realizar interações de hidrogênio intermoleculares (GITERU; ALI; OEY, 2021). Já as superfícies laterais do prisma são consideradas como regiões hidrofóbicas uma vez que a maioria dos resíduos apresentam grupos pouco polares (GITERU; ALI; OEY, 2021; LUO; WANG, 2014). Uma representação esquemática desse modelo é apresentada na FIGURA 6.

FIGURA 6: REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DE UM DOS MODELOS PROPOSTOS PARA A ESTRUTURA TERCIÁRIA DA α -ZEÍNA



FONTE:Zhang et al., (2021b)

A grande variedade de aminoácidos também faz com que a zeína apresente múltiplos pontos isoelétricos compreendidos na faixa entre 5 e 9, dependendo das condições experimentais (GITERU; ALI; OEY, 2021; JASKI et al., 2022). Entretanto, é frequente encontrar na literatura o valor entre 6,2 e 6,8 para a α -zeína (BOUMAN et al., 2016; CARLOS JOAQUÍN PÉREZ-GUZMÁN; ROBERTO CASTRO-MUÑOZ, 2020; YUAN et al., 2022). Nesse caso, em condições de pH próximo ao ponto isoelétrico, a zeína estará majoritariamente na forma neutra e haverá a tendência de agregação da proteína, enquanto em valores abaixo e acima, a α -zeína estará, respectivamente, positiva e negativamente carregada. Isso permite, por exemplo, a reticulação com outros polímeros ou fármacos por interação eletrostática (BOUMAN et al., 2016; YUAN et al., 2022).

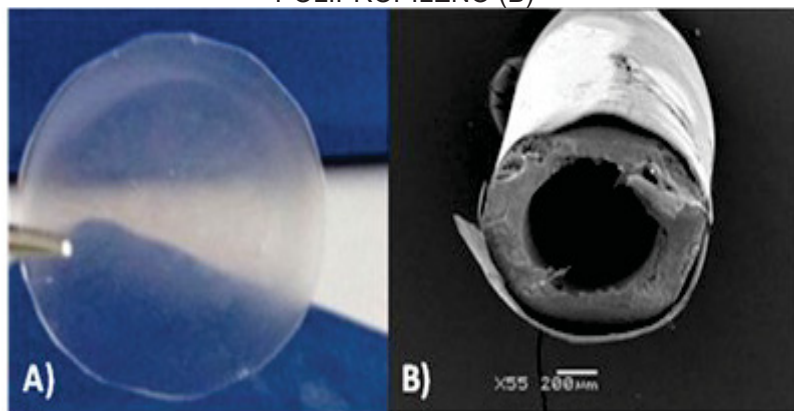
Outras propriedades de destaque da zeína, além da hidrofobicidade e de ser obtida com um recurso de renovação abundante são, por exemplo, o fato de ser um biomaterial considerado seguro, apresentar biocompatibilidade, biodegradabilidade e baixa toxicidade, além da capacidade de formar filmes (JASKI et al., 2022; PALIWAL; PALAKURTHI, 2014).

2.2.5 Aplicação de hidro e criogéis como fase sortiva

Apesar das vantagens dos hidro e criogéis (de acordo com as condições e polímeros empregados na síntese), ainda é relativamente recente o interesse da aplicação desses materiais como fases sorventes em processos de extração.

Podem-se destacar trabalhos desenvolvidos pelo grupo CroMe como o de Sampaio et al., (2019) no qual foram sintetizados discos de hidrogéis de PVOH e pectina como fase sorvente (FIGURA 7 A). O objetivo foi a aplicação deste gel como fase de SPE para extração de hormônios esteroidais em amostras de águas de rio por GC-MS/MS (cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas sequencial - *gas chromatography tandem mass spectrometry*) obtendo-se limites de quantificação entre 0,5 e 1 $\mu\text{g L}^{-1}$.

FIGURA 7: DISCO DE HIDROGEL DE PVOH E PECTINA (A) E MICROGRAFIA ELETRÔNICA DO FILME DE HIDROGEL DE ALGINATO E ZEÍNA SUPORTADO EM FIBRA OCA DE POLIPROPILENO (B)



FONTE: A) Sampaio et al, (2019); B) Castilhos et al, (2017)

Em outro trabalho do grupo (CASTILHOS et al., 2017) foi utilizada uma blenda de alginato e zeína suportada em uma fibra de polipropileno (PP) na técnica de SPME (FIGURA 7 B). Nesse estudo, foi possível a determinação de contaminantes de preocupação emergente, com polaridade de média a alta, em amostras de água por GC-MS/MS.

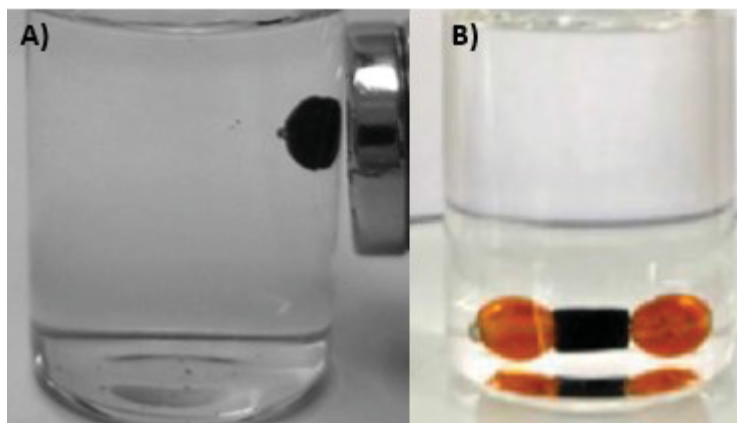
Em ambos os trabalhos há a vantagem de aplicar fases sorventes com materiais de baixo custo. Outra relevante característica é a possibilidade de reutilização destas fases, sendo que no primeiro trabalho relata-se, por exemplo, a reutilização do disco de hidrogel por 10 extrações consecutivas. Já no segundo, foi possível realizar 5 extrações subsequentes garantindo-se estabilidade do filme de hidrogel (mesmo após exposição à diferentes solventes devido às condições do experimento) e eficiência de extração.

Mais recentemente, foi desenvolvido no grupo CroMe uma outra fase sortiva baseada em hidrogel de alginato de sódio como revestimento para a fibra de polipropileno (GUZELLA; SOUTO; SILVA, 2022). O dispositivo foi aplicado para determinação do antidepressivo fluoxetina e o metabólito norfluoxetina em plasma humano por SPME e LC (cromatografia líquida – *liquid chromatography*) com detecção por fluorescência. Foi constatado que a fibra recoberta com o hidrogel funcionou como uma material de acesso restrito ao bloquear mais de 95% das proteínas no plasma, eliminando a necessidade de aplicação de uma etapa de precipitação de proteínas.

Para os criogéis, destacam-se alguns trabalhos como o relatado por Shaikh et al. (2015), no qual foram empregados discos de criogel com partículas molecularmente impressas para extração seletiva de cipermetrinas por GC/MS em amostras de água. Outro exemplo é apresentado recentemente no trabalho de Rattanakunsong et al., (2022). Foi realizada a aplicação de sorvente magnético baseado em criogel na técnica de SPE assistida por solvente para a determinação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA) por LC com detector de fluorescência em amostras de fraldas descartáveis, café e chá.

Já o estudo relatado por Makkliang et al., (2017) (FIGURA 8 A) apresenta a síntese de microesferas de criogel de polipirrol e quitosana com inserção de fios de aço para microextração de ftalatos em soluções de lente de contato e amostras artificiais de saliva. Outros autores relatam (NURERK et al., 2021) o desenvolvimento de um dispositivo SBSE em formato de halter aplicando criogel de PVOH (FIGURA 8 B). Para isso, redes metalorgânicas (MIL -101) foram aprisionadas no criogel e recobertos com poli (3,4-etilenodioxítiofeno) (PEDOT) para extração de compostos fenólicos antioxidantes em produtos alimentícios. Esses são, até o momento, alguns dos poucos trabalhos encontrados que aplicam fase sorvente baseada em gel (hidro ou criogel) para a técnica SBSE ou similar.

FIGURA 8: DISPOSITIVOS BASEADOS EM CRIOGEL PARA SBSE



FONTE: A) Makkliang et al., (2017) ; B) Nurerk et al., (2021)

É possível observar, portanto, a potencialidade que passou a ser explorada recentemente da aplicação dos géis (hidro e criogéis) como fase extratora. Estes materiais apresentam possibilidade de diversos modos de preparo com obtenção de diferentes formatos (discos, esferas, filmes, entre outros) e variadas constituições, permitindo a extração de compostos de diferentes polaridades em diferentes matrizes.

Além disso, ainda há uma lacuna no desenvolvimento destas fases baseadas em géis aplicadas à extração sortiva em barra de agitação, sendo que são encontrados poucos trabalhos na literatura com essa aplicação. Ainda mais, percebe-se também que há pouca variedade com relação às matrizes, sendo que geralmente são amostras ambientais e poucos trabalhos relatam aplicação em fluidos biológicos.

2.3 MONITORAMENTO DE MATRIZES BIOLÓGICAS E AMBIENTAIS

2.3.1 Fluidos biológicos humanos

Seres vivos são expostos diariamente à diversas substâncias potencialmente nocivas por meio de uma infinidade de fontes: alimentos, fármacos, produtos industriais, água, ar, solo, entre outros (L et al., 2022). O monitoramento de fluidos biológicos humanos, abreviada como “biomonitoramento” de humanos, é uma ferramenta para avaliação da exposição à compostos químicos. A fim de angariar informações, podem ser estudados indivíduos de forma isolada ou coletiva para análise de substâncias e/ou seus respectivos metabólitos e produtos de reação/degradação em quaisquer fluidos biológicos (saliva, urina, sangue, tecido adiposo, entre muitos outros) (NEEDHAM; CALAFAT; BARR, 2007).

Uma vez que o biomonitoramento humano pode permitir a aquisição de informações da dose interna de um determinado composto ou classe de substâncias, pode-se aplicá-lo como uma ferramenta para avaliação de riscos e fundamentar a criação de políticas de proteção (TAMAYO-ORTIZ et al., 2022). No continente europeu, foi criada a HBM4EU (*European Human Biomonitoring Initiative*) para compreensão da exposição, seja ambiental ou ocupacional, por meio de estudos de biomonitoramento a fim de prover um gerenciamento de riscos e suportar a criação de propostas públicas (TARAZONA et al., 2022).

A realização desse monitoramento é baseada na avaliação de um composto, denominado como biomarcador, em matrizes biológicas uma vez que o órgão ou célula-alvo geralmente não está disponível para análise. A classificação dos biomarcadores pode ser realizada, principalmente, como de exposição ou efeito. No tipo de exposição, pode-se determinar o composto parental ou respectivos metabólitos/produtos de reação, enquanto a categoria de biomarcadores de efeito refere-se a alterações em nível celular (como enzimas metabólicas) ou mutações, por exemplo (SILINS; HÖ, 2011).

Idealmente, os fluidos biológicos empregados no monitoramento devem ser de fácil coleta, sem risco à saúde, mínimo desconforto ao indivíduo e em quantidade suficiente para análise (ANGERER; EWERS; WILHELM, 2007; SILINS; HÖ, 2011). Frequentemente são empregados o sangue e urina, entretanto, outras matrizes como saliva e leite materno têm se destacado como alternativas menos invasivas (ANGERER; EWERS; WILHELM, 2007; CHOJNOWSKA et al., 2018; ESTEBAN; CASTAÑO, 2009).

2.3.1.1 Plasma

Uma das matrizes mais comumente utilizadas para estudos de biomonitoramento é o plasma humano, em especial por informar a exposição direta do indivíduo à substância por diferentes vias, uma vez que o sangue está em contato com tecidos e órgãos (ELMONGY; ABDEL-REHIM, 2016; YUSA et al., 2009).

Essa matriz é composta principalmente por água e eletrólitos, além de 7 a 8% de proteínas sendo a albumina a prioritária (55% m/m da parte proteica). Outros constituintes são lipídeos, hormônios e metabólitos, com concentrações sujeitas a variações patológicas e fisiológicas (DE OLIVEIRA et al., 2008; ULRICH; MARTENS, 1997).

As desvantagens de aplicação deste fluido biológico é o fato de ser uma amostra invasiva e que necessita de profissional especializado para coleta. Além disso, causa desconforto ao paciente e pode oferecer risco, como transmissão de doenças tanto ao paciente quanto ao profissional (CHOJNOWSKA et al., 2018; ELMONGY; ABDEL-REHIM, 2016).

2.3.1.2 Urina

A urina é uma alternativa viável por ser abundante, não invasiva, de fácil coleta e rota majoritária de excreção de compostos na sua forma intacta ou de seus metabólitos (ESTEBAN; CASTAÑO, 2009; LORD; PAWLISZYN, 2001). É composta por água em grande porcentagem (95%), com presença de compostos orgânicos como ureia (2%), creatinina (0,1%), ácido úrico (0,03%), ácido hipúrico e aminoácidos em menores quantidades, além de sais inorgânicos como cloretos e sulfatos de íons como sódio, cálcio, potássio e amônio (RANDALL; NAIDOO, 2018; SARIGUL; KORKMAZ; KURULTAK, 2019).

Entretanto, a composição da urina pode variar de acordo com fatores como gênero, idade, raça, consumo de alimentos, tabagismo, atividade física e medicamentos. Além disso, ao longo do dia um mesmo indivíduo pode apresentar variações na constituição do fluido biológico e há outras desvantagens como diferenças em métodos de coleta, dificuldades de armazenamento correto e presença de microrganismos patogênicos (RANDALL; NAIDOO, 2018; ROSE et al., 2015; SARIGUL; KORKMAZ; KURULTAK, 2019).

Neste contexto, o desenvolvimento de formulações sintéticas de urina é de grande interesse pela facilidade de manipulação, obtenção de composição padronizada para estudos, além de maior segurança do operador (SARIGUL; KORKMAZ; KURULTAK, 2019).

2.3.1.3 Leite materno

Para o biomonitoramento da exposição ambiental ou ocupacional da mãe e seu bebê, um fluido biológico frequentemente empregado é o leite materno, sendo considerado como não invasivo e de fácil coleta (DUNN; CAREY, 2010; ESTEBAN; CASTAÑO, 2009). A composição do leite é uma mistura complexa de substâncias tanto as produzidas pela mãe (endógenas) quanto outras introduzidas em seu sistema (exógenas) por meio de drogas lícitas ou não, alimentação, fármacos e bebidas.

A composição típica dessa matriz contém majoritariamente água e outras centenas de substâncias endógenas nutritivas como lipídeos, carboidratos, proteínas, aminoácidos, minerais e vitaminas, e não nutritivas como enzimas, ácidos nucleicos, hormônios, células epiteliais e outros, de forma a contribuir para a saúde do bebê (BALLARD; MORROW, 2013; LAKIND; AMINA WILKINS; BERLIN, 2004).

Entretanto, a composição pode ser influenciada por diversos fatores desde características maternas como, dentre outros, idade, etnia e dieta alimentar, até duração da lactação, tempo decorrido desde a última amamentação e variação diurna com diferenças na composição durante a manhã e noite (ANDREAS; KAMPMANN; MEHRING LE-DOARE, 2015).

Em cenários nos quais a amamentação materna não é desejada, possível ou necessita de suplementação, podem ser empregados substitutos ao leite materno, como as fórmulas infantis (ALLES; SCHOLTENS; BINDELS, 2004). Esses produtos empregam, principalmente, leite de vaca e são adicionadas outras substâncias de forma a se obter uma composição nutricional equivalente e garantir benefícios à saúde infantil (ALMEIDA et al., 2021).

Os componentes principais que devem ser encontrados nas fórmulas infantis são proteínas, gorduras e carboidratos, além de vitaminas e minerais, sendo que a composição apresentará diferenças conforme o estágio de desenvolvimento do bebê (SAXENA et al., 2019).

2.3.1.4 Saliva

Outra alternativa para estudo de fluidos biológicos é a saliva. As vantagens são de ser considerada uma matriz biológica não invasiva, segura e de fácil coleta, não precisando de profissional especializado ou de supervisão para evitar possíveis adulterações (CHOJNOWSKA et al., 2018; ELMONGY; ABDEL-REHIM, 2016).

Este é um fluido de excreção levemente ácido constituído majoritariamente por água (de 94 a 99%), mas também por uma variedade de eletrólitos (cálcio, magnésio, potássio, bicarbonato, fosfato e outros), diversas proteínas e lipídeos, além de compostos nitrogenados como amônia e ureia (HUMPHREY; WILLIAMSON, 2001). Entretanto, características individuais como gênero, idade, doenças e medicações também podem afetar o fluxo e composição da secreção salivar (Almeida et al., 2008).

Apesar do método de coleta e armazenamento também influenciar a composição da amostra, não há ainda um protocolo que padronize esta etapa de recolhimento da

matriz para análise (CHOJNOWSKA et al., 2018; MICHALKE et al., 2014). Desta forma, dependendo da forma da coleta e de fatores característicos de cada indivíduo, a saliva humana pode ter uma composição variável. Além disso, possui uma baixa estabilidade quando fora da cavidade oral que pode ser atribuída, por exemplo, ao fato de ser colonizada por bactérias e quando realizado o processo de esterilização, pode ocorrer a degradação de compostos dessa matriz (PYTKO-POLONCZYK et al., 2017).

Para contornar essas dificuldades, é possível a utilização de preparações sintéticas, obtendo-se uma formulação estável e padronizada de composição típica da saliva para estudos *in vitro* (PYTKO-POLONCZYK et al., 2017). Diferentes composições sintéticas são relatadas em vários estudos, como revisado por Pytko-Polonczyk e colaboradores (2017) com foco nas aplicações para testes biológicos. Não há um consenso sobre as formulações artificiais, porém, majoritariamente, são compostas por cloretos de potássio, magnésio, sódio e amônio, fosfatos de sódio e potássio, além de ureia, com valores de pH entre 5,0 e 7,3.

2.3.1.5 Fluidos biológicos simulados

Devido às dificuldades supracitadas de estabilidade, risco de contaminação e substancial variação entre indivíduos, na composição das matrizes biológicas, destaca-se o uso das respectivas formulações simuladas. O propósito é o de obter uma composição padronizada, que permita a mimetização da constituição de cada matriz de forma segura tanto para voluntários quanto para o operador. Além disso, há a vantagem de garantir que variáveis como idade, gênero, hábitos alimentares e de tabagismo, entre diversos outros, não interfiram na análise.

É possível encontrar na literatura uma grande variedade de trabalhos recentes que aplicam matrizes biológicas simuladas como saliva, urina, plasma e formulação de leite para bebês em estudos de diversas áreas como, por exemplo, analítica e farmacêutica (ALVI; HAMMAMI, 2020; FENG et al., 2023; HUELSMANN; WILL; CARASEK, 2021; ZENGİN, 2021), médica, biomédica e odontológica (ALEMZADEH et al., 2021; KUMAR; GAUTAM; BEHERA, 2023; KUROWIAK et al., 2020; SHIMAZU et al., 2020), sensores (CARDOSO et al., 2023; PALLA et al., 2021) e em estudos a respeito do SARS-CoV-2 (LEE et al., 2022; SMITHER et al., 2020).

Também, cabe ressaltar que no cenário da pandemia do novo coronavírus considera-se como transmissão direta o contato com fluidos corporais como saliva (BAGHIZADEH FINI, 2020), lágrimas, fezes, urina e sêmen de indivíduos contaminados (ATUKORALLAYA; RATNAYAKE, 2021; KARIA et al., 2020).

Com base nisso, torna-se viável a realização de estudos empregando formulações sintéticas, uma vez que possibilita uma mimetização da constituição do fluido biológico de forma padronizada, estável e segura.

2.3.2 Corpos aquáticos ambientais

No contexto ambiental, realiza-se o monitoramento de diferentes compartimentos como águas superficiais, subterrâneas e de abastecimento, com o objetivo de determinação de indicadores (químicos, físicos e/ou biológicos) por um determinado tempo. Isso também permite a obtenção de informações a respeito da qualidade da água, podendo ajudar na identificação de fontes de poluição e efetividade de medidas de proteção (HO et al., 2020; NGUYEN et al., 2019).

Em águas superficiais, como rios e lagos, possíveis fontes de contaminação podem ser, por exemplo, pela lixiviação de contaminantes do solo, deposição atmosférica e drenagem pluvial tanto em áreas rurais quanto urbanas. Além disso, fontes relevantes de contaminação são o aporte direto de efluentes tratados, ou não, nestes corpos aquáticos superficiais. Assim, águas residuais se caracterizam como matrizes complexas uma vez que possuem, além dos poluentes, uma variedade de componentes como matéria orgânica dissolvida, material particulado, sedimento suspenso, gases dissolvidos e íons inorgânicos, entre outros. A constituição pode ser relacionada com a sua respectiva origem, além da existência e tipo de tratamento do efluente (SOUZA-SILVA et al., 2015).

Devido à essa complexidade, os métodos convencionais para tratamento podem ser poucos eficientes na remoção dos contaminantes, resultando na remoção incompleta ou na obtenção de outras formas destes compostos (GAVRILESCU et al., 2015; GÓMEZ et al., 2007; MACHADO et al., 2016; RAHMAH, 2017). A permanência dessas substâncias nos corpos aquáticos após o tratamento de esgoto e de água pode acarretar a contaminação da água de abastecimento público, destacando-se como uma relevante rota de exposição por ser aplicada para diversos fins como irrigação e abastecimento de água potável de consumo para humanos e animais (MACHADO et al., 2016).

Verifica-se então a importância de desenvolvimento e aplicação de técnicas que possibilitem a determinação de contaminantes emergentes, mesmo em baixas concentrações, em amostras ambientais como águas superficiais e de abastecimento.

2.4 DESREGULADORES ENDÓCRINOS

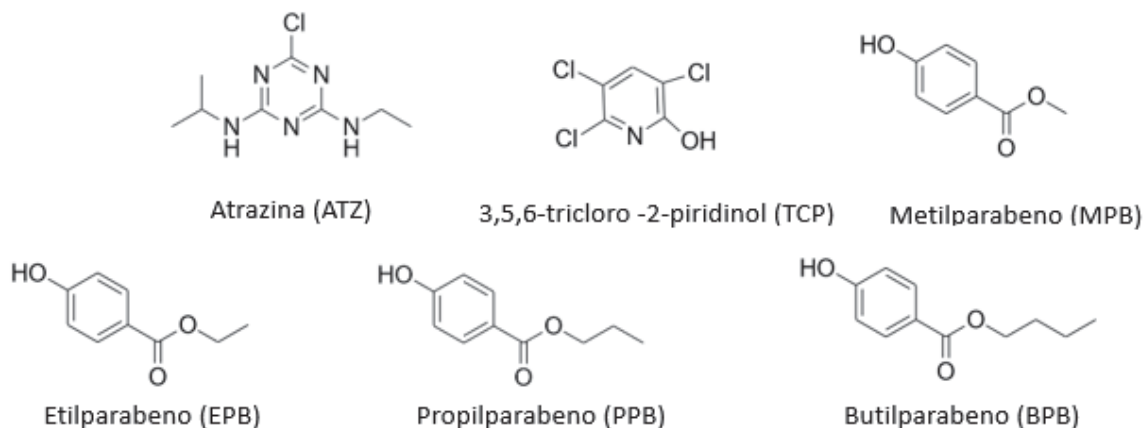
Os chamados desreguladores, ou interferentes, endócrinos (EDCs – *Endocrine Disruptors Chemicals*) são compostos químicos, de origem natural ou não, que podem interferir no funcionamento do sistema endócrino dos seres vivos (GHISELLI; JARDIM, 2007; MAIA; DEZOTTI, 2007). Esta interferência pode afetar qualquer etapa da ação hormonal, alterando a biossíntese e, também, o metabolismo, transporte e mecanismo de ação, o que pode influenciar indivíduos desde o desenvolvimento fetal até a vida adulta (HAMPL; KUBÁTOVÁ; STÁRKA, 2016; LESO et al., 2018). Como efeitos, têm-se dentre outros, diminuição da fertilidade, aumento de defeitos congênitos, ocorrência de câncer e alteração sexual (ANNAMALAI, JAYSHREE; NAMASIVAYAN, 2015).

Diversas substâncias químicas são suspeitas de causarem estas perturbações no sistema endócrino, sendo divididas em duas classes: naturais e sintéticas. Na primeira, têm-se por exemplo, os fitoestrogênios e os estrogênios naturais como o 17 β -estradiol, estrona e estriol (MAIA; DEZOTTI, 2007). Já a segunda classe é constituída por substâncias utilizadas para controle agrícola (agrotóxicos como inseticidas, fungicidas etc.), substâncias sintéticas (bisfenol, ftalatos, parabenos, policlorados de bifenilas, entre outros) e, também, por derivados de hormônios naturais como, por exemplo, os contraceptivos femininos à base de estrogênio e progesterona (HAMPL; KUBÁTOVÁ; STÁRKA, 2016; MAIA; DEZOTTI, 2007).

O uso ocupacional desses interferentes, como no caso de controle agrícola ou processos industriais, acarreta uma alta exposição específica. Porém, tal exposição pode ocorrer também a partir do consumo e utilização de produtos de uso cotidiano como alimentos, bebidas, itens de cuidado pessoal, agrotóxicos de uso doméstico e outros (DARBRE, 2015; RAZA et al., 2018). Além disso, essas substâncias estão presentes em todos os compartimentos do meio ambiente (atmosfera, sedimentos, solos, vegetação e corpos aquáticos), podendo ser encontradas até mesmo em destinos remotos como a Região Ártica (ANNAMALAI, JAYSHREE; NAMASIVAYAN, 2015).

Neste trabalho serão destacados os desreguladores endócrinos das classes dos agrotóxicos e conservantes (FIGURA 9).

FIGURA 9: ESTRUTURA QUÍMICA DOS ANALITOS SELECIONADOS NO TRABALHO



FONTE: A autora (2022)

Esses compostos foram selecionados pelo fato de pertencerem à diferentes classes e apresentarem diferentes características como grupos funcionais e solubilidade em água. Além disso, essas substâncias configuram amplas faixas para o negativo do logaritmo da constante de dissociação ácida (entre 1,6 para atrazina e 8,5 para butilparabeno) e da constante de partição octanol/água (de 1,96 para MPB a 3,57 para o BPB), conforme apresentado na TABELA 1.

TABELA 1 - INFORMAÇÕES E CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DOS ANALITOS

Composto	Número CAS	Massa molar (g mol ⁻¹)	Solubilidade em água a 20 ou 25 °C (mg L ⁻¹)	log Ko/w	pKa
Atrazina (ATZ)	1912-24-9	215,69	35,0 ^a	2,61	1,6
3,5,6-tricloro-2-piridinol (TCP)	6515-38-4	198,43	80,9 ^a	3,21	4,55 ^b
Metilparabeno (MPB)	99-76-3	152,15	2500	1,96	8,5
Etilparabeno (EPB)	120-47-8	166,18	885	2,47	8,3
Propilparabeno (PPB)	94-13-3	180,20	500	3,04	8,5
Butilparabeno (BPB)	94-26-8	194,23	207	3,57	8,5

FONTE: a Dados obtidos em Lewis et al., (2016).; b Dado obtido em Shemer; Sharpless; Linden, (2005). Demais dados: National Center for Biotechnology Information. Pubchem Database.

2.4.1 Agrotóxicos

Segundo a OMS (Organização Mundial de Saúde ou WHO – *World Health Organization*) os agrotóxicos, também comumente denominados como pesticidas, são compostos químicos aplicados com o intuito de liquidar pragas como ervas, fungos e insetos, tanto em áreas agrícolas quanto em ambientes domésticos. Contudo, a natureza tóxica destas substâncias pode ser nociva para outros seres vivos, inclusive humanos (WHO, 2018). Estudos apontam uma relação entre a exposição a agrotóxicos, tanto ocupacional quanto ambiental, à ocorrência de doenças crônicas como câncer, diabetes, mal de Parkinson e doença de Alzheimer (MOSTAFALOU; ABDOLLAHI, 2013; YUSA et al., 2009).

Dentre as diferentes classes e representantes de agrotóxicos, destaca-se o herbicida atrazina (ATZ - 2-cloro-4-etilamino-6-isopropilamino-triazina) pelo fato de ser amplamente utilizado ao redor do mundo para controle de ervas daninhas. Segundo o Ministério da Saúde, este herbicida configurou como o segundo agrotóxico mais comercializado no Brasil em 2013 (BRASIL, 2016). Com base na sua ampla aplicação em vegetações e, também devido suas características físico-químicas (TABELA 1) e persistência moderada, a atrazina é comumente lixiviada para corpos aquáticos, sendo detectada em amostras de solo e água (NEIVERTH, 2015). Este composto possui efeitos de alterações endócrinas em mamíferos e anfíbios, sendo capaz, neste último caso, até mesmo de causar mudanças sexuais (JABLONOWSKI; SCHÄFFER; BURAUDEL, 2011).

Também de relevante importância ambiental tem-se o organofosforado clorpirifós (CPF- O,O-dietil O-3,5,6-tricloropiridin-2-ol fosforotioato), de alta toxicidade (COCHRAN et al., 1995). Uma vez no organismo humano após ser absorvido por vias oral, dérmica ou respiratória, o CPF é metabolizado no fígado e seu principal produto de transformação é o TCP: 3,5,6 – tricloro- 2 piridinol (ATSDR, 1997; SMITH et al., 2009). Baseado nisto, o TCP é considerado como biomarcador de exposição ao clorpirifós, sendo encontrado em amostras de sangue e urina, por exemplo (LI et al., 2020).

Além disto, por apresentar maior solubilidade em água (TABELA 1) que seu composto originário, o TCP possui maior mobilidade e é encontrado como contaminante em diferentes compartimentos ambientais como solos e águas (ECHEVERRI-JARAMILLO et al., 2021). Alguns autores indicam a potencialidade da

interferência endócrina, deste metabólito e de compostos que possuam tricloro piridina em sua estrutura, causando prejuízo na fertilidade, (LI et al., 2020).

No trabalho publicado por Echeverri-Jaramillo e co-autores (2021) foi avaliada a citotoxicidade e atividade estrogênica dos compostos CPF e TCP em ensaios *in vitro* com células de mamíferos e uma levedura. Foi relatado que, em ambos os tipos de células, o TCP apresentou maior toxicidade que o CPF. Além disso, verificou-se que os dois compostos apresentaram níveis de atividade estrogênica semelhantes, causando efeitos em concentrações de 0,04 e 0,07 mg L⁻¹, respectivamente.

Convém também destacar que estudos já associaram distúrbios psicológicos como depressão e ansiedade (chegando ao ponto de tentativas de suicídio e óbitos) ao uso, intoxicações e alta exposição a agrotóxicos (CAMPOS et al., 2016; FARIA; FASSA; MEUCCI, 2014; FREIRE; KOIFMAN, 2013; PIRES; CALDAS; RECENA, 2005; SUAREZ-LOPEZ et al., 2019; WU et al., 2023). Diferentes classes já foram relacionadas à ideação ou morte por suicídio o que destaca a importância dos estudos de monitoramento da exposição de seres vivos a essas substâncias.

2.4.2 Conservantes: parabenos

Parabenos são ésteres derivados do ácido *p*-hidroxibenzóico comumente utilizados como conservantes em produtos alimentícios, farmacêuticos e de cuidados pessoais (FARAJZADEH; MARZI KHOSROWSHAHI; KHOSH MARAM, 2015). Essa classe é composta por ésteres ligados a grupos alquila ou arila (FIGURA 9), sendo que os mais frequentemente empregados para os fins supracitados, de forma individual ou em conjunto, incluem o metil (MPB), etil (EPB), propil (PPB) e butilparabeno (BPB) (CABALEIRO et al., 2014; PIAO; CHEN; WANG, 2014; SONI; CARABIN; BURDOCK, 2005).

A popularidade dessa classe de conservantes deve-se ao fato de apresentarem um amplo espectro de atividade antimicrobiana e suficiente solubilidade em água (TABELA 1), sendo que, conforme aumenta-se a cadeia carbônica do grupo ligado ao éster, maior é a atividade antimicrobiana, porém, por outro lado, menor a solubilidade em água (PIAO; CHEN; WANG, 2014; SONI; CARABIN; BURDOCK, 2005). Outras propriedades interessantes desta classe de compostos é a estabilidade térmica e química, relativo baixo custo de produção, odor e sabor não perceptíveis, além de considerada baixa toxicidade (BLEDZKA; GROMADZINSKA; WASOWICZ, 2014;

FERNANDES et al., 2013; OCAÑA-GONZÁLEZ et al., 2015; SONI; CARABIN; BURDOCK, 2005).

A exposição humana a parabenos pode ser pela ingestão, inalação ou absorção dérmica (RODRÍGUEZ-GÓMEZ et al., 2014) e a metabolização depende dessa via de exposição. Quando administrados oralmente, os parabenos são absorvidos rapidamente pelo sangue e trato intestinal. Tanto pela administração oral quanto pela absorção dérmica, os parabenos são metabolizados por estereases, sendo que o produto majoritário é o ácido 4-hidroxibenzoico, o qual pode ser conjugado com sulfato, ácido glucorônico ou glicina, porém a eficiência da metabolização no organismo depende do tamanho do grupo alquila do parabeno (ABBAS et al., 2010; BLEDZKA; GROMADZINSKA; WASOWICZ, 2014). Já a excreção dos parabenos e seus metabólitos é realizada pela urina e bile (VELA-SORIA et al., 2014).

Apesar de tradicionalmente serem considerados de baixa toxicidade, estudos relatam atividade estrogênica dos parabenos (AKER et al., 2016; NOWAK et al., 2018) associando-os, por exemplo, à ocorrência de certos tipos de câncer, especialmente o de mama (ALBERO et al., 2012; SONI; CARABIN; BURDOCK, 2005).

Esta correlação foi investigada no trabalho de Darbre et al., (2004) com a determinação de mais de uma substância desta classe em todas as 20 amostras de tecidos de mama cancerosos avaliadas, dando indícios da bioacumulação na forma intacta (sem metabolização) destes compostos. Foram obtidas concentrações dos analitos na ordem de 20 ng por grama de tecido de mama para uma metodologia analítica baseada em cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas sequencial (LC-MS/MS – *liquid chromatography tandem mass spectrometry*).

Dando continuidade ao estudo, foram analisados tecidos após mastectomias, aumentando, desta vez, o número para 160 amostras (CHARLES; DARBRE, 2013). Foram determinados parabenos em 99% dessas amostras, com valores de concentração média de 85 ng g⁻¹. Adicionalmente, foi observado que a combinação de parabenos nas concentrações determinadas anteriormente (BARR et al., 2012) são suficientes para estimular a proliferação de células cancerosas.

Além disso, em outro trabalho é relatado que, de forma individual, o metilparabeno afeta as células que iniciam o tumor de mama e regula diretamente os genes da célula tronco (LILLO et al., 2017). Ademais, há estudos que indicam uma exposição humana generalizada aos parabenos devido aos níveis dessas substâncias

encontrados em urina em estudos de biomonitoramento (BARR, 2008; VELA-SORIA et al., 2017). Os níveis de concentração de parabenos em urina humana foram relacionados, ainda de forma fraca, mas que não pode ser descartada, com biomarcadores de estresse oxidativo, hormônios da tireóide e danos ao DNA do espermatozoide (BLEDZKA; GROMADZINSKA; WASOWICZ, 2014; KANG et al., 2016).

Baseando-se nestes efeitos adversos, a União Europeia regulamentou, em 2009, a concentração máxima desses conservantes em até 0,4% (m/m) para cada parabeno individualmente e até 0,8% (m/m) para o total de misturas desses parabenos em produtos comerciais (EU, 2009). Além disso, instituições dos Estados Unidos e Canadá também recomendam os mesmos limites de concentrações individuais e em misturas (BLEDZKA; GROMADZINSKA; WASOWICZ, 2014; KOLATOROVA SOSVOROVA et al., 2017).

Dessa forma, ainda são necessários mais estudos a respeito dos parabenos, tanto em matrizes biológicas quanto ambientais, visando compreender a contaminação e os efeitos de bioacumulação e de desregulação endócrina adversos à saúde humana e de outros seres vivos.

2.5 DETERMINAÇÃO DE AGROTÓXICOS E CONSERVANTES EM MATRIZES BIOLÓGICAS E AMBIENTAIS

Na literatura diversos trabalhos relatam a determinação de desreguladores endócrinos como agrotóxicos e parabenos em matrizes biológicas e ambientais. No caso das ambientais tem-se, por exemplo, a determinação de parabenos tal como apresentado por Regueiro et al., (2009). Nesse estudo foram analisadas amostras de águas residuais, de rio e de piscina para a determinação de 4 parabenos (MPB, EPB, PPB e BPB), triclosan e clorofenóis por HS-SPME (microextração em fase sólida com *headspace* – *headspace- solid phase microextraction*) e GC-MS/MS. Foi possível a quantificação de três parabenos (EPB, PPB e BPB) na amostra de água de esgoto sem tratamento, sendo que o PPB apresentou a maior concentração ($2,78 \text{ ng mL}^{-1}$) e BPB a menor ($0,318 \text{ ng mL}^{-1}$).

Para matrizes biológicas, pode-se destacar trabalhos como a avaliação de leite materno e urina de mães e seus bebês para quantificação de CPF e seu principal metabólito TCP (BRAHMAND et al., 2019). Para as amostras de urina os autores empregaram SPE com fase extratora de C18, enquanto a extração em leite materno

foi realizada por HS-SPME, sendo ambas amostras analisadas por GC/MS. As porcentagens de detecção do metabólito na urina de 61 mães e bebês foram de 32,8 e 55,7%, com concentrações médias de 1,3 e 1,4 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente.

Autores brasileiros publicaram um estudo da quantificação de parabenos (MPB, EPB, PPB e BPB) e outros 12 contaminantes em amostras de saliva de voluntários residentes na cidade de Ribeirão Preto, São Paulo (DE OLIVEIRA et al., 2019). Empregou-se a DLLME e LC-MS/MS. O MPB foi detectado em todas as amostras coletadas, observando-se que maiores concentrações foram encontradas na saliva de mulheres, possivelmente relacionado ao uso de cosméticos contendo parabenos, sendo que o maior valor quantificado foi de 0,018 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

Outros estudos recentemente publicados que foram encontrados na literatura para cada desregulador endócrino de interesse, são destacados na TABELA 2. Nestes trabalhos são estudados diversos compostos, porém, na tabela, foram destacados somente os que são analitos deste trabalho.

TABELA 2 - TRABALHOS COM DETERMINAÇÃO DOS ANALITOS EM AMOSTRAS BIOLÓGICAS E AMBIENTAIS

Analito	Matriz	Técnica e fase sorvente	Sistema analítico	Ref.
Atrazina	Águas superficiais	SPE (C_{18})	UPLC-MS/MS	Fu et al., (2022)
Atrazina	Urina	MIL-DLLME	LC-DAD	Will et al., (2020)
Atrazina	Plasma	LLE e PPT	GC-MS	Yuan et al., (2018)
Atrazina	Leite materno	LLE e SPE (Oasis HLB)	UPLC-MS/MS	Pedersen et al., (2021)
3,5,6 tricloro piridinol	Água de rio	LDS-VSLLME-SFO	HPLC-UV	Peng et al., (2015)
3,5,6 tricloro piridinol	Urina	SPE (Select HLB)	LC-MS/MS	Hussain et al., (2023)
3,5,6 tricloro piridinol	Urina	LLE	GC-MS/MS	Klimowska et al., (2020)
Parabenos	Águas de rio, lago e abastecimento	SPE (PEI-CNFs@CP)	LC-UV	Pasupuleti; Tsai; Ponnusamy, (2021)
Parabenos	Água de rio	SPE (C_{18})	GC-MS/MS	Reichert et al., (2020)
Parabenos	Saliva	DLLME	GC-MS	Vu; Lim; Shin, (2020)
Parabenos	Leite materno	SPE (rGO/Mg-Al LDH)	LC-UV	Manouchehri et al., (2020)
Parabenos	Urina e saliva	LLE e DLLME	UHPLC-MS/MS	Moscoso-Ruiz et al., (2023)

UPLC-MS/MS: cromatografia líquida de ultra eficiência com espectrometria de massas sequencial; **MDMSPE:** extração magnética dispersiva em fase microsólida; **MIL-DLLME:** DLLME com líquido iônico magnético; **PPT:** precipitação de proteínas; **LDS-VSLLME-SFO:** sem tradução, do inglês *low-density solvent-based vortex-assisted surfactant-enhanced-emulsification liquid-liquid microextraction with the solidification of floating organic droplet*; **PEI-CNFs@CP:** sem tradução, do inglês *Poly(ethyleneimine)-functionalized carbon nanofibers coated cellulose paper*; **rGO/Mg-Al LDH:** sem tradução, do inglês *magnesium-aluminum layered double hydroxide coated on graphene oxide nanocomposite*.

FONTE: A autora (2023).

Constata-se nos exemplos da TABELA 2 que ainda são empregadas técnicas convencionais com, porém, fases *lab-made* e não apenas as comerciais. Além disso, também é possível observar a aplicação de técnicas miniaturizadas como DLLME, por exemplo. Desta maneira, fica claro o interesse ainda recente na detecção simultânea de diferentes classes de interferentes endócrinos em matrizes tanto ambientais quanto biológicas. Para isso, faz-se inevitável o desenvolvimento de novas fases sortivas. Assim, os compostos supramencionados, pelos motivos expostos, foram selecionados neste trabalho como moléculas modelo para avaliação da aplicação de materiais a base de géis como fases sorventes.

3 OBJETIVOS

Preparar e avaliar géis poliméricos como fases sorventes para dispositivos SBSE (extração sortiva em barra de agitação) e estudar a sorção de diferentes contaminantes em matrizes aquosas.

3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Desenvolver o método cromatográfico de GC/MS para análise simultânea dos contaminantes;
- Preparar géis e avaliar a estabilidade e potencial uso como fase extratora;
- Desenvolver dispositivos SBSE com fases baseadas em géis e avaliar eficiência de sorção;
- Realizar a caracterização físico-química dos géis desenvolvidos;
- Aplicar os dispositivos SBSE com fases baseadas em géis em fluidos biológicos humanos simulados (leite materno, plasma, urina e saliva) e em amostras de águas superficiais e de abastecimento.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 PADRÕES ANALÍTICOS E REAGENTES

Os padrões de alta pureza (>98%) dos parabenos metilparabeno (MPB), etilparabeno (EPB), propilparabeno (PPB) e butilparabeno (BPB) e dos agrotóxicos atrazina (ATZ) e 3,5,6 tricloro- 2 piridinol (TCP) são da marca Sigma Aldrich. Soluções estoque de $1,0 \text{ g L}^{-1}$ foram preparadas em metanol grau HPLC (J.T.Baker) para cada interferente endócrino estudado. Diluições, também em metanol, foram realizadas para o preparo das soluções padrão de trabalho contendo todos os analitos nas concentrações de 0,01 e $0,1 \text{ g L}^{-1}$.

Para o preparo dos géis foram utilizados os polímeros poli (álcool vinílico) (MM 89.000-98.000 g mol^{-1} ; 99+% hidrolisado – Sigma Aldrich), alginato de sódio (Sigma Aldrich), zeína (Sigma Aldrich) e pectina cítrica adquirida em comércio local. Esta última foi purificada (dispersão 10% m/v em água ultrapura) pelo processo de diálise em água destilada com membrana de celulose regenerada (Spectra/Por de 12 a 14 kDa). A troca de água foi realizada 4 vezes ao dia e, ao final do período de 3 dias, a dispersão foi congelada. Posteriormente foi realizada a liofilização por 4 dias (liofilizador Liotop L101). O agente reticulante foi o ácido cítrico (Qhemis) e a água ultrapura (resistividade $18,2 \text{ M}\Omega \text{ cm}$ a 25°C) empregada nos ensaios foi purificada pelo sistema Milli-Q, Millipore.

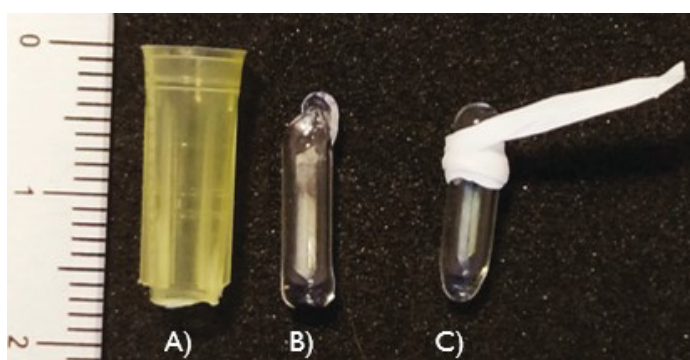
Na etapa de derivatização por acilação, foram empregados solução aquosa 5,0% (m/v) de carbonato de sódio (Synth) além de anidrido acético (Sigma-Aldrich) e hexano grau HPLC (J.T.Baker).

Para obtenção de fluidos biológicos sintéticos foram empregados cloretos de sódio (F Maia), potássio (Vetec), cálcio (Alphatec) e amônio (Biotec), além de sulfatos de magnésio (Sigma-Aldrich) e sódio (Vetec). Também foram utilizados fosfato mono (Vetec) e dibásico (Êxodo Científica), ácido úrico (Sigma-Aldrich), citrato de sódio (Synth), tiocianato de potássio (CRQ), creatinina (Merck), bicarbonato de sódio (Vetec), ureia (Reagen), tris (hidroximetil)-aminometano (Biosolve) e albumina sérica bovina (Sigma-Aldrich).

4.2 BARRAS DE AGITAÇÃO COM FASE SORVENTE BASEADA EM GÉIS

Barras magnéticas foram confeccionadas no Laboratório de Hialotecnia do Departamento de Química da UFPR consistindo em hastes metálicas (obtidas pelo corte de pregos disponíveis comercialmente) com invólucro de vidro. Foram produzidas e utilizadas barras magnéticas de vidro de aproximadamente 1 cm com formato cilíndrico (FIGURA 10).

FIGURA 10: MOLDE CONSTITUÍDO POR SEGMENTO DE 1,5 cm DE PONTEIRA DE POLIPROPILENO (A), BARRA MAGNÉTICA DE VIDRO DE 1 cm (B) E BARRA MAGNÉTICA DE VIDRO ENVOLTA COM FITA DE TEFLON (C)



FONTE: A autora (2020)

Estas barras magnéticas *lab-made* foram utilizadas como suporte para as fases sorventes baseadas em gel as quais foram incorporadas pela completa imersão da barra no molde (ponteira de 200 μ L cortada - FIGURA 10 – A) contendo a dispersão polimérica constituinte do gel. Para isso, foi empregada fita de teflon (comercialmente disponível como fita “veda rosca”) selando uma das extremidades do molde e, também, envolvendo a barra (FIGURA 10 – C) de forma a deixá-la suspensa na dispersão polimérica.

4.2.1 HIDROGEL E CRIOGEL

O preparo e a imobilização dos géis em vidro foram realizados com foco naqueles constituídos pelos polímeros alginato de sódio (Alg), poli (álcool vinílico) (PVOH), pectina (Pec) e zeína (Z). Em um primeiro momento as dispersões poliméricas foram submetidas a processos que possibilitassem a obtenção tanto de hidrogéis quanto de criogéis. Posteriormente restringiu-se apenas a obtenção de criogéis.

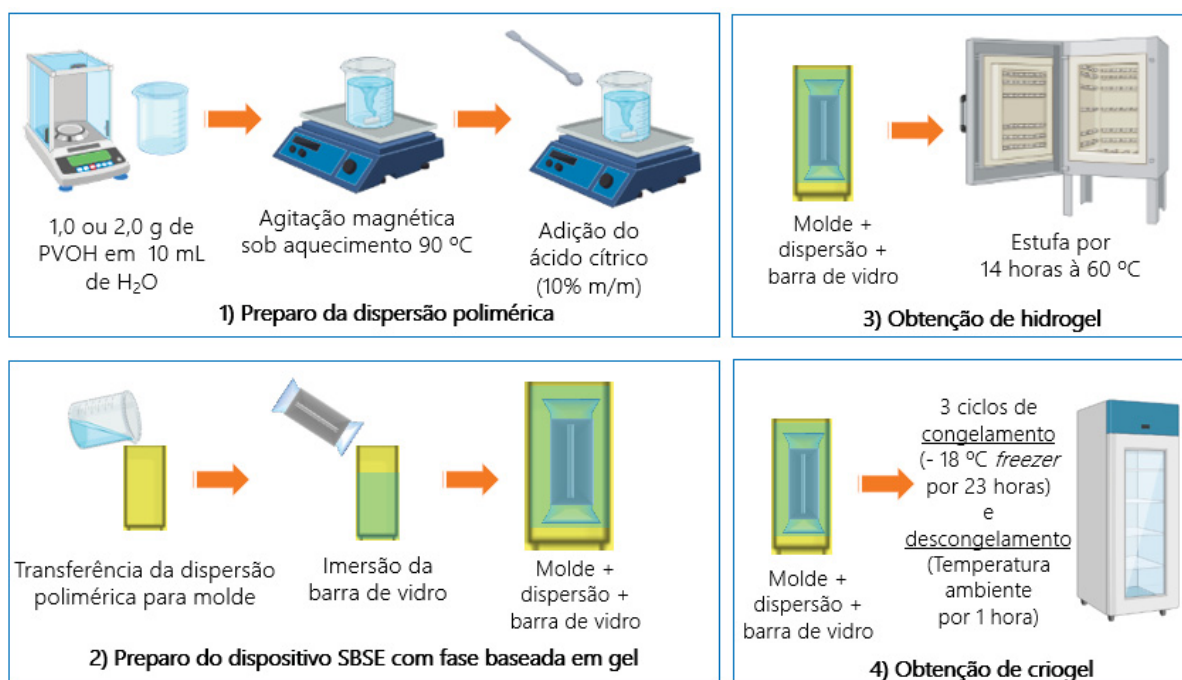
As composições avaliadas foram de PVOH; PVOH/Alg; PVOH/Pec e PVOH/Z e as concentrações de cada polímero serão apresentadas nas seções subsequentes.

4.2.1.1 Géis de PVOH

A partir do trabalho de Yokoyama et al., (1986) foram avaliados os criogéis constituídos somente por PVOH em água ultrapura, sem agente reticulante. A dispersão de poli (álcool vinílico) foi mantida sob agitação magnética a 90 °C, com resfriamento a temperatura ambiente. Os ciclos de congelamento a -18 °C foram de 23 horas e descongelamento por 1 hora a temperatura ambiente. No estudo base é relatada a avaliação do número de ciclos (de 1 a 14 ciclos) e a interferência destes na composição do gel formado. Entretanto, de forma a possibilitar a síntese do gel no período de uma semana, selecionou-se o número de 3 ciclos para esses ensaios.

De acordo com a síntese já realizada no grupo CroMe (SAMPAIO et al., 2019) também foram obtidos hidro e criogéis com agente reticulante (FIGURA 11).

FIGURA 11: REPRESENTAÇÃO DO PREPARO DE GÉIS DE PVOH EM DISPOSITIVOS SBSE



FONTE: A autora (2023)

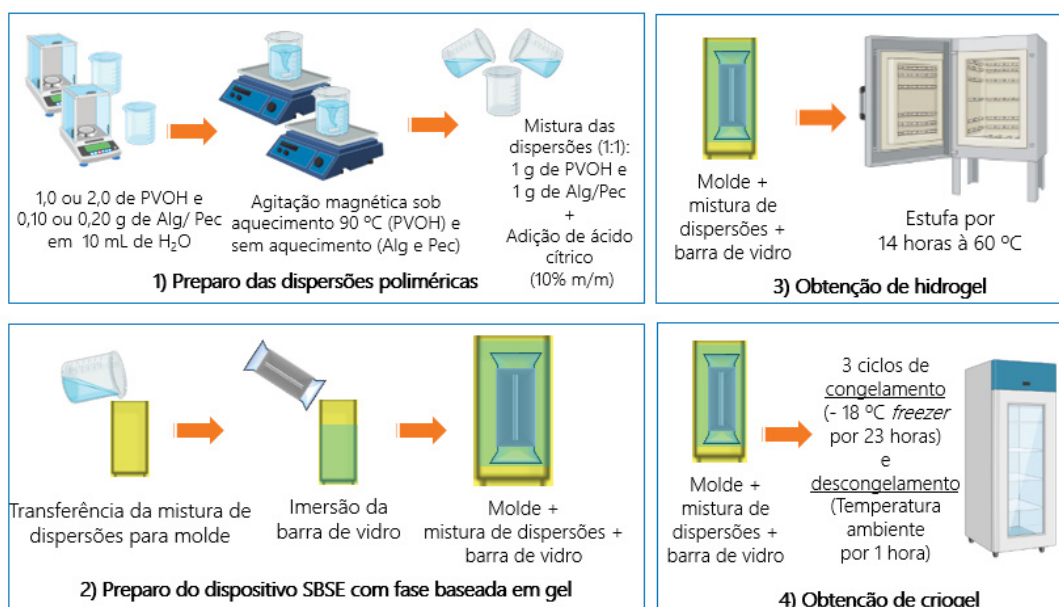
No primeiro caso, a dispersão de poli (álcool vinílico) com a adição de ácido cítrico (massa correspondente a 10% da massa polimérica do gel) como agente reticulante foi transferida para um molde no qual, logo depois, foi mergulhada uma barra de vidro, permanecendo em estufa a 60 °C por 14 horas. Já para o segundo,

adaptou-se as mesmas condições de síntese do hidrogel com, porém, o emprego de ciclos de congelamento e descongelamento em vez de aquecimento em estufa.

4.2.1.2 Géis de PVOH/ Pectina e PVOH/Alginato

Os géis de poli (álcool vinílico) com pectina ou alginato também foram fundamentados no trabalho de Sampaio et al., (2019). Conforme apresentado no fluxograma (FIGURA 12), foram empregadas dispersões de PVOH em água ultrapura, obtida sob agitação com aquecimento a 90 °C, e dispersões de alginato e pectina sob agitação sem aquecimento. A mistura dos polímeros foi realizada na proporção de 1:1 (m/m). Além disso, adicionou-se a quantidade de agente reticulante ácido cítrico referente a 10% da massa total dos polímeros da mistura. A mistura obtida foi transferida para um molde mergulhando uma barra magnética de vidro e levado à estufa a 60 °C durante 14 horas para obtenção do hidrogel.

FIGURA 12: REPRESENTAÇÃO DO PREPARO DE GÉIS DE PVOH/ALG E PVOH/PEC EM DISPOSITIVOS SBSE



FONTE: A autora (2023)

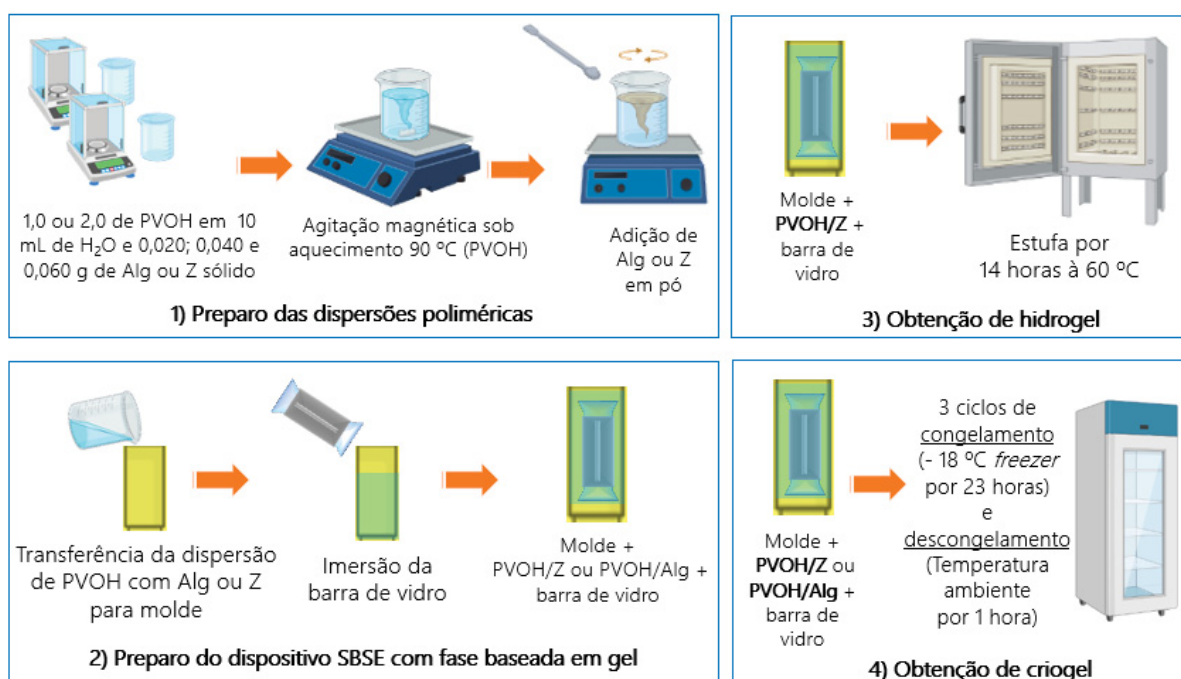
Para obtenção de criogéis foram adaptadas condições de congelamento e descongelamento fundamentadas no trabalho de Yokoyama et al., (1986). O processo de adição de reticulante, mistura dos polímeros e transferência para um molde foi realizada de maneira similar à obtenção do hidrogel. A diferença, porém, foi a de levar o molde ao congelador para 3 ciclos de congelamento e descongelamento por 23 e 1 hora, respectivamente. Ao término destes ciclos, o criogel foi deixado a temperatura

ambiente para completa secagem. O processo de secagem, de maneira geral, finalizava após 3 dias.

4.2.1.3 Géis de PVOH com zeína ou alginato de sódio em pó

Tomando como base o trabalho de Papancea; Patachia; Dobritoiu, (2015), foram sintetizados hidro e criogéis de PVOH e zeína com proporções de massa de 99:1; 98:2 e 97:3 (m/m). Conforme apresentado no fluxograma da FIGURA 13, a obtenção dos géis foi realizada da mesma forma das já discutidas nos testes anteriores. A diferença, neste caso, foi a aplicação da zeína na forma sólida (em pó). Esta adição foi realizada com massa suficiente de forma a obter a proporção desejada em 2 g da mistura polimérica. Por fim, também foi realizada a síntese do criogel de PVOH com alginato de sódio na forma sólida na proporção de 98:2 (m/m).

FIGURA 13: REPRESENTAÇÃO DO PREPARO DE GÉIS DE PVOH COM ZEÍNA OU ALGINATO DE SÓDIO EM PÓ EM DISPOSITIVOS SBSE



FONTE: A autora (2023)

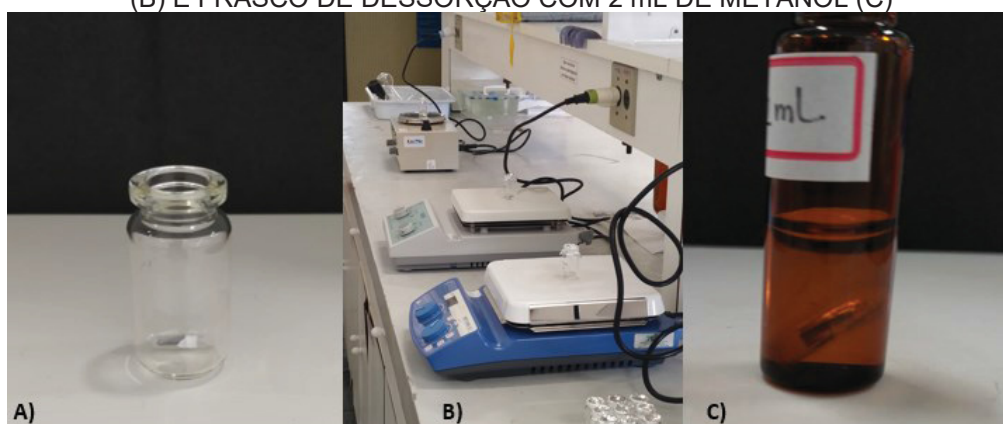
Todos os géis que apresentaram características adequadas de aderência ao vidro foram submetidos aos testes de estabilidade. Os solventes escolhidos foram a água ultrapura e o metanol. Estes testes foram realizados pela imersão da barra magnética de vidro com o gel imobilizado (depois de seco) no solvente, permanecendo sob agitação magnética por 2 horas. Os géis que permaneceram na

barra de vidro após agitação por este período, e não se desprenderam ao serem removidos da solução, foram considerados como estáveis.

4.3 ENSAIOS DE EFICIÊNCIA DE SORÇÃO

De forma a avaliar a aplicabilidade das fases baseadas em gel como fases sortivas, foram realizados ensaios de extração. Aplicou-se água ultrapura fortificada com os analitos (2,0 mL) na concentração de $2,0 \text{ mg L}^{-1}$ e o processo de extração ocorreu em frascos de vidro de 10 mL (FIGURA 14 A) pelo período de 1 hora. A triplicata de cada teste foi realizada pela utilização de 3 barras diferentes, recobertas com a respectiva fase sortiva a ser testada, em 3 chapas de agitação diferentes (FIGURA 14 B).

FIGURA 14: FRASCO DE EXTRAÇÃO COM DISPOSITIVO SBSE (A), EXTRAÇÃO EM TRIPLICATA (B) E FRASCO DE DESSORÇÃO COM 2 mL DE METANOL (C)



FONTE: A autora (2022)

A etapa de dessorção foi realizada pela imersão, após o período de extração, da barra com fase de gel em 2,0 mL de metanol, deixando-se em banho ultrassônico por 30 minutos (FIGURA 14 C). Ao final, realizou-se a coleta de 500,0 μL do extrato em metanol e transferiu-se para um *vial* cromatográfico.

Para avaliação do efeito de dessorções consecutivas, após a etapa inicial de extração e dessorção, o dispositivo SBSE foi transferido para outro frasco contendo 2,0 mL de metanol e novamente foi submetido ao banho ultrassônico por 30 minutos. Foram realizados três ensaios de dessorção em triplicata.

Já para o experimento de reutilização das barras com fases sortivas de criogel, logo em seguida à etapa de dessorção, cada dispositivo foi enxaguado com água destilada e ultrapura e disposto em papel absorvente para secagem. Imediatamente após, cada barra foi transferida para um outro frasco de 10 mL contendo água

ultrapura e os analitos (2,0 mL de água ultrapura com analitos na concentração de 2,0 mg L⁻¹) para uma nova etapa de extração/dessorção. O procedimento completo de extração/dessorção foi realizado no total de três vezes (fase P10) ou quatro (fases P10A2 e P10P2) e cinco vezes (P10Z) em triplicata.

Nos ensaios de eficiência de sorção com intumescimento do criogel, foram avaliadas as condições sem intumescimento e com intumescimento pelo período de 2 e 24 horas. Para isso cada barra foi imersa em água ultrapura antes da adição dos analitos à fase aquosa. Cada ensaio foi realizado em triplicata.

4.4 EFEITO MATRIZ (EF)

Foram avaliados os efeitos da composição de diferentes matrizes no processo de sorção. O procedimento de extração também foi realizado empregando frascos de vidro com volume final de 2,0 mL da matriz avaliada. Os analitos foram adicionados à matriz na concentração de 1,5 mg L⁻¹. Para a etapa de dessorção permaneceu o mesmo procedimento de transferência para frasco âmbar de vidro contendo 2,0 mL de metanol.

A fim de possibilitar a comparação do efeito matriz, realizou-se no mesmo dia ensaios de extração tanto em água ultrapura quanto na matriz aquosa avaliada. Dados de efeito matriz foram obtidos para cada analito pela Equação 1 a seguir:

$$\text{Efeito Matriz (EF \%)} = \frac{AP(\text{matriz aquosa}) - AP(\text{água ultrapura})}{AP(\text{água ultrapura})} \cdot 100 \quad (\text{Equação 1}),$$

sendo que AP refere-se à área normalizada de pico do analito.

Foram avaliados fluidos biológicos simulados preparados em água ultrapura e amostras ambientais de corpos aquáticos como águas de abastecimento e superficiais.

4.4.1 Fluidos biológicos simulados

4.4.1.1 Fórmula infantil

Para obtenção de matriz que simulasse o leite materno foi empregada fórmula infantil disponível comercialmente (Aptamil Premium 1 – Danone). O preparo da amostra foi realizado conforme consta na embalagem: solubilização de 4,6 g da fórmula infantil em 30,0 mL de água ultrapura.

4.4.1.2 Plasma, urina e saliva

A simulação dos fluidos biológicos humanos de plasma, urina e saliva foram preparados com os reagentes nas concentrações apresentadas na TABELA 3.

TABELA 3 – REAGENTES E CONCENTRAÇÃO APROXIMADA PARA PREPARO DE FLUIDOS SIMULADOS

Reagentes	Plasma Simulado (g L ⁻¹)	Urina Simulada (g L ⁻¹)	Saliva Simulada (g L ⁻¹)
NaCl	7,996	1,756	0,126
NaHCO ₃	0,350	-	0,631
KCl	0,224	2,308	0,964
K ₂ HPO ₄	0,228	-	-
KH ₂ PO ₄	-	-	0,655
MgCl ₂	0,305	-	-
HCl (1 mol L ⁻¹)	40,0 mL	-	-
CaCl ₂	0,278	0,185	0,228
Na ₂ SO ₄	0,071	1,70	0,336
Tris	6,057	-	-
BSA	4,0	-	-
Ácido úrico	-	0,250	-
Citrato de sódio	-	0,720	-
Creatinina	-	0,881	-
Ureia	-	15,00	0,200
NH ₄ Cl	-	1,266	0,178
Oxalato de potássio	-	0,035	-
MgSO ₄	-	1,082	-
NaH ₂ PO ₄	-	2,912	-
Na ₂ HPO ₄	-	0,831	-
KSCN	-	-	0,189

Tris: tris (hidroximetil)-aminometano; **BSA:** albumina sérica bovina

FONTE: A autora (2023)

Para simulação de plasma humano (50,0 mL) foram adicionadas quantidades adequadas dos reagentes relatados nos trabalhos de Chavan et al., (2010) e Wang et al., (2011) os quais se basearam no protocolo de (OYANE et al., 1999). Entretanto, foi necessária a redução da concentração de albumina sérica bovina descrita em Wang et al., (2011) de 40 g L⁻¹ para, aproximadamente, 4 g L⁻¹.

Para a urina foram preparados 100,0 mL de solução em água ultrapura com base no trabalho de Sarigul et al., (2019). Enquanto, para a obtenção de saliva humana simulada (1,0 L) foi empregado o protocolo relatado em Pistone et al., (2017) e em Pytko-Polonczyk et al., (2017). Entretanto, houve a remoção da etapa experimental de ajuste de pH com o borbulhamento de gás carbônico.

4.4.2 Corpos aquáticos

4.4.2.1 Águas superficiais e de abastecimento

Amostras de águas naturais superficiais foram obtidas no Parque das Águas no município de Pinhais, região metropolitana de Curitiba-PR. Para coleta empregou-se um balde que foi lançado ao lago para alcançar o leito afastado da margem. Os recipientes utilizados para coleta e armazenamento foram ambientados com a própria amostra antes da realização da respectiva etapa. O volume coletado foi transferido para frasco plástico de 10 L o qual foi armazenado a 4° C.

Já as amostras de água de abastecimento foram obtidas com a coleta, em endereço residencial, de água de torneira com recebimento diretamente da rede de distribuição da cidade de Curitiba -PR. Antes da coleta foi realizada a limpeza da torneira com álcool 70% e enxague do frasco de vidro de armazenamento com a própria amostra. O volume coletado também foi armazenado em frasco de vidro a 4°C.

4.5 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA

4.5.1 Grau de intumescimento

Foram realizados ensaios, em triplicata, para determinação do grau de intumescimento (GI %) de cada composição candidata à fase sortiva baseada em gel. Os ensaios foram realizados com o dispositivo SBSE completo (barra de vidro recoberta com criogel) e com apenas o criogel em 2,0 mL de água ultrapura, metanol ou na matriz biológica de saliva simulada.

Inicialmente pesou-se o gel seco e logo em seguida cada gel foi imerso no solvente por períodos de 15 a 1440 minutos. Após o tempo estipulado, cada barra foi retirada da matriz e transferida para toalhas de papel a fim de remover o excesso de solvente.

O cálculo do grau de intumescimento e perda de solvente foi realizado pela Equação 2 a seguir:

$$\text{Grau de intumescimento (GI \%)} = \frac{M_t - M_0}{M_0} \cdot 100 \quad (\text{Equação 2}),$$

sendo que M_t refere-se à massa do gel no tempo t e M_0 à massa inicial do criogel seco.

4.5.2 Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

As análises de espectroscopia de FTIR foram realizadas na Central Analítica do Departamento de Química da UFPR. Os espectros de absorbância dos géis foram obtidos no modo ATR (reflectância total atenuada com cristal de germânio). As análises foram realizadas na região de infravermelho médio (4000 a 600 cm^{-1}) com 128 *scans* por amostra e resolução de 4 cm^{-1} .

4.5.3 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Análises de MEV foram realizadas no Centro de Microscopia da UFPR (CME), com os géis secos a temperatura ambiente e após os processos de liofilização, troca de solvente e ponto crítico. Para liofilização foi realizada a etapa anterior de congelamento dos géis logo após a síntese.

Para o preparo por troca de solvente foi feita a imersão das amostras em mistura de água ultrapura e etanol na proporção de 50:50 (v/v) por 24 horas. Em seguida, os materiais foram transferidos para um recipiente contendo apenas etanol e permaneceram novamente por 24 horas.

Já para o preparo de ponto crítico foi aplicada uma série alcóolica com a transferência dos géis intumescidos (em água ultrapura por 1 hora) para recipientes contendo etanol em misturas com água ultrapura em proporções de 10:90 a 100% (v/v) por 10 minutos em cada.

Todas as amostras foram metalizadas com ouro e imagens foram adquiridas em microscópio eletrônico de varredura modelo VEGA3 (TESCAN®), operando em 10 ou 15 kV.

4.5.4 Ângulo de contato

Medidas de ângulo de contato foram realizadas pelo método da gota sésil no laboratório do GPMIn-UFPR (Grupo Pesquisa em Macromoléculas e Interfaces). Gotas de água destilada foram depositadas na superfície dos géis, em três pontos distintos, com obtenção de imagens no momento exato do contato do solvente com a superfície do material. As medidas dos ângulos direito e esquerdo de cada gota foram obtidas com auxílio do *software* ImageJ® e plugin *Contact Angle*.

4.6 CROMATOGRAFIA GASOSA ACOPLADA À ESPECTROMETRIA DE MASSAS

As análises cromatográficas foram realizadas no cromatógrafo a gás Shimadzu modelo GCMS2010 Plus, acoplado a espectrômetro de massas em tandem do tipo triplo quadrupolo (modelo TQ8040), autoamostrador (modelo AC 5000) e hélio analítico (5.0) como gás de arraste.

O *software GCMS Solution* foi utilizado para as determinações no modo *Full Scan* no intervalo de razão massa/carga (m/z) de 60 a 400. As análises foram realizadas em coluna SLB-5MS – 30 m x 0,25 mm x 0,25 μm com vazão de 1,0 mL min^{-1} . As temperaturas do injetor e fonte de íons foram mantidas em 250 °C, enquanto a temperatura da interface foi de 300 °C. A programação de temperatura foi realizada condicionando o forno do GC na temperatura inicial de 120 °C por 0,5 minutos, aumentando sob taxa de 15 °C min^{-1} até a temperatura de 200 °C e depois atingindo a temperatura final de 280 °C, a 20 °C min^{-1} , mantida por 2,67 minutos, totalizando o tempo de corrida cromatográfica de 11 minutos. O volume de amostra injetado foi de 1 μL aplicando-se o modo de injeção *splitless*.

Para aquisição no modo de monitoramento seletivo de íons (SIM - “*Selected Ion Monitoring*”) foram selecionados três íons, sendo um de quantificação e dois de confirmação.

4.7 DERIVATIZAÇÃO

O processo de derivatização avaliado foi a reação de acilação com anidrido acético. A reação consistiu na secagem das soluções metanólicas (extrato após SBSE) e adição de 840,0 μL da solução de carbonato de sódio 5,0% (m/v) e 90,0 μL de anidrido acético, sob agitação em vórtex por 2,0 minutos. Em seguida foram adicionados 500,0 μL de hexano, agitação em vórtex por 1,0 minuto, seguido de

repouso para separação das fases. Por fim, uma alíquota de 200,0 µL da fase orgânica foi transferida para um *insert* no *vial* para injeção no sistema cromatográfico. Este procedimento é baseado em trabalhos na literatura (BAGHERI; SABER; MOUSAVI, 2004; BALLESTEROS; GALLEGOS; VALCÁRCEL, 1990; REGUEIRO et al., 2009).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

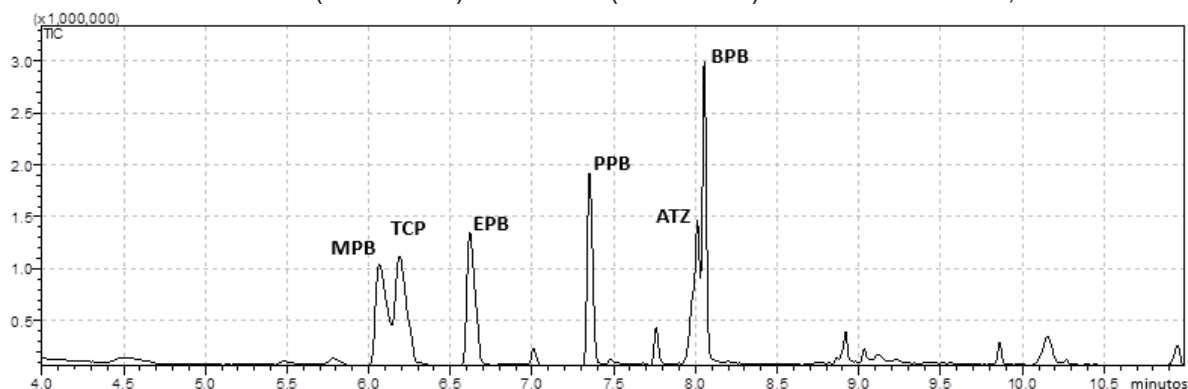
5.1 CONDIÇÕES CROMATOGRÁFICAS

Para a separação cromatográfica simultânea no GC/MS de todos os compostos estudados foi necessária a etapa de derivatização. Este processo baseou-se na reação de acilação, na qual um hidrogênio ativo da molécula, como os de grupos hidroxila, são substituídos por um grupo acila (Segura; Ventura; JURADO, 1998).

A aplicação desta etapa foi realizada de forma a avaliar melhorias no desempenho cromatográfico pela diminuição da polaridade e aumento da volatilidade dos compostos estudados. Há também contribuição no sentido de minimização da absorção inespecífica e indesejada na coluna cromatográfica, obtendo-se picos com melhor simetria e formato (FARAJZADEH; NOURI; KHORRAM, 2014; SEGURA; VENTURA; JURADO, 1998).

O cromatograma da separação dos analitos no modo *Full Scan* é apresentado na FIGURA 15.

FIGURA 15: CROMATOGRAMA DA INJEÇÃO NO MODO *SPLITLESS* (1,5 mg L⁻¹) COM REGISTRO *FULL SCAN*. TEMPERATURA INICIAL DO FORNO DE 120 °C POR 0,5 min, ELEVANDO-SE À 200 °C (15 °C min⁻¹) E À 250 °C (20 °C min⁻¹) MANTENDO POR 2,67 MINUTOS



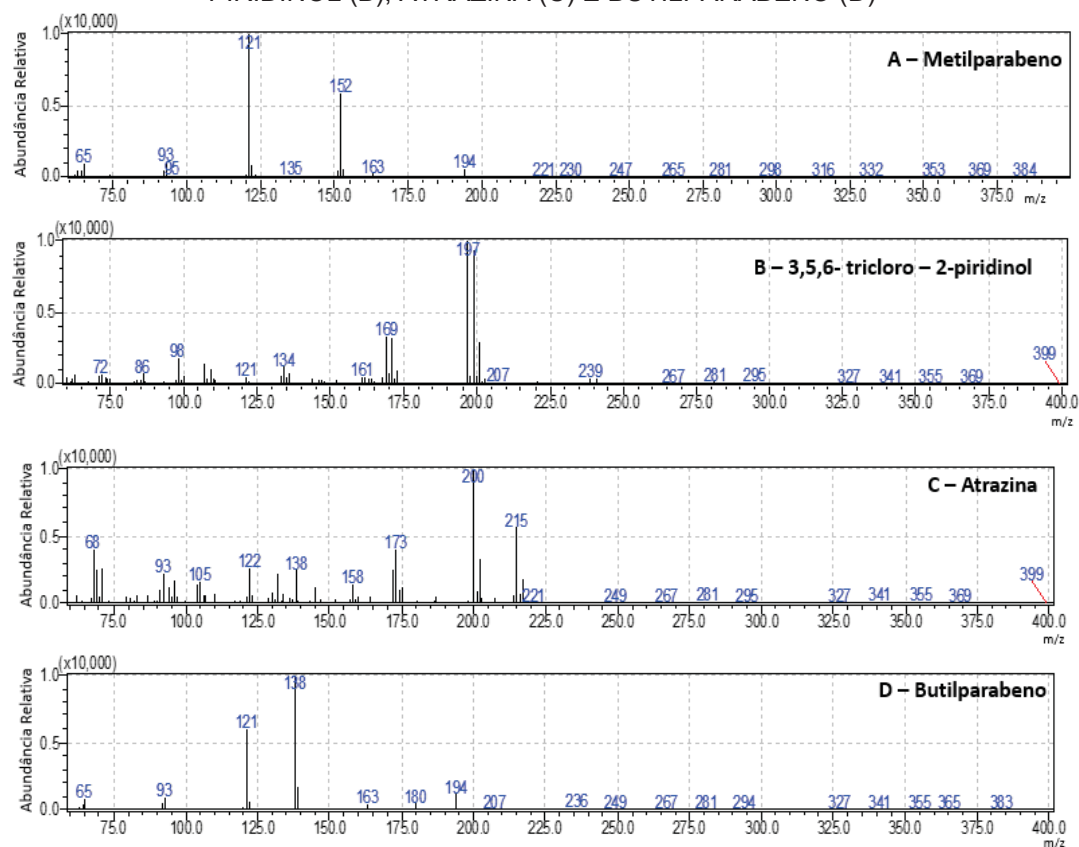
MPB: metilparabeno; **TCP:** 3,5,6-tricloro-2-piridinol; **EPB:** etilparabeno; **PPB:** propilparabeno;
ATZ: atrazina e **BPB:** butilparabeno

FONTE: A autora (2022)

No cromatograma é possível observar a coeluição de alguns analitos acarretando baixa resolução para fins quantitativos (Resolução MPB/TCP=0,84 e ATZ/BPB= 0,44). Entretanto, uma vez que cada dupla de compostos coeluídos apresenta perfil de fragmentação e razão massa/carga (m/z) distintos (FIGURA 16), a resolução insuficiente pode ser contornada por deconvolução espectral aplicando

o modo de monitoramento de íons seletivos na etapa de detecção no espectrômetro de massas.

FIGURA 16: ESPECTROS DE MASSAS DO METILPARABENO (A), 3,5,6-TRICLORO-2-PIRIDINOL (B), ATRAZINA (C) E BUTILPARABENO (D)



FONTE: A autora (2023)

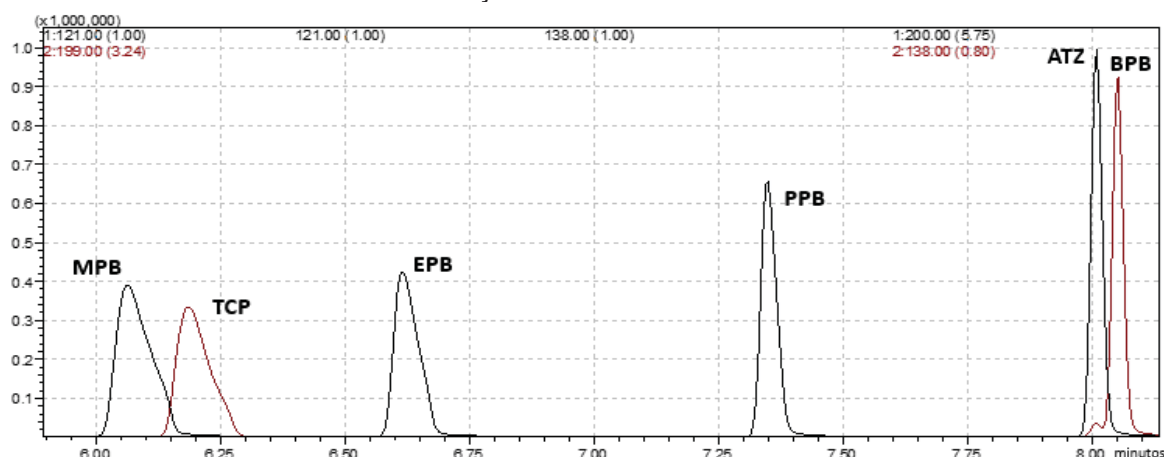
Desta forma, a partir do cromatograma *Full Scan* foi possível o desenvolvimento do método cromatográfico no modo SIM para todos os analitos após processo de derivatização (FIGURA 17). Foram selecionados três íons: um íon de quantificação (apresentado em negrito na TABELA 4) e dois de confirmação.

TABELA 4 –ÍONS SELECIONADOS APÓS DERIVATIZAÇÃO

Composto	Íons após derivatização (m/z)
Metilparabeno (MPB)	121 ,152,93
3,5,6-tricloro-2-piridinol (TCP)	199 ,197,201
Etilparabeno (EPB)	121 ,138,166
Propilparabeno (PPB)	138 ,121,180
Atrazina (ATZ)	200 ,215,173
Butilparabeno (BPB)	138 ,121,139

FONTE: A autora (2022)

FIGURA 17: CROMATOGRAMA NO MODO SIM DOS ANALITOS (1,5 mg L⁻¹) COM SEUS RESPECTIVOS ÍONS DE QUANTIFICAÇÃO NO MODO *SPLITLESS*



MPB: metilparabeno; TCP: 3,5,6-tricloro-2-piridinol; EPB: etilparabeno; PPB: propilparabeno; ATZ: atrazina e BPB: butilparabeno
FONTE: A autora (2022)

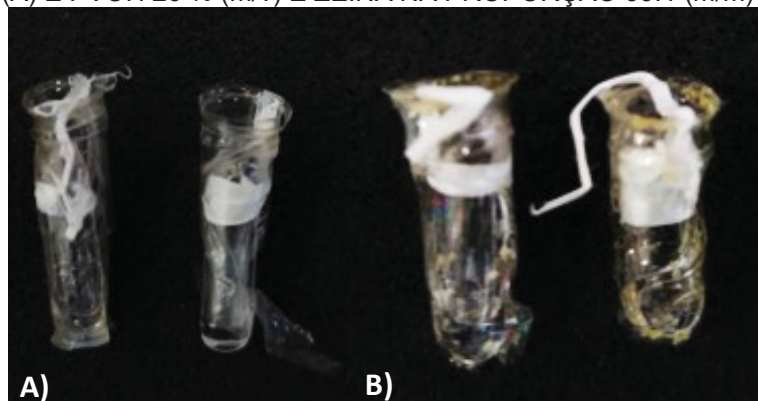
Assim, é possível observar que, no modo SIM, as coeluições dos picos MPB/TCP e ATZ/BPB puderam ser contornadas, possibilitando a integração da área de pico de cada analito com o seu respectivo íon (m/z) de quantificação.

5.2 BARRAS DE AGITAÇÃO COM FASE SORVENTE BASEADA EM GÉIS

5.2.1 Hidrogéis

Todas as composições de PVOH isolado ou combinado com alginato de sódio, pectina cítrica e zeína foram avaliadas para síntese de hidrogéis. De forma geral, os géis apresentaram constituição quebradiça e aspecto semelhante a um filme plástico bastante fino. Pelo fato da estrutura não ser rígida o suficiente, além do recobrimento incompleto, não foi realizada a estabilidade em água e metanol. Exemplos de hidrogéis sintetizados são apresentados na FIGURA 18.

FIGURA 18: BARRAS RECOBERTAS COM HIDROGEL DE PVOH 30% (m/v) E PECTINA 2,0% (m/v) (A) E PVOH 20 % (m/v) E ZEÍNA NA PROPORÇÃO 99:1 (m/m) (B)



FONTE: A autora (2022)

Assim, as fases baseadas em hidrogel não atingiram os critérios mínimos estabelecidos de aderência ao vidro e estabilidade mecânica para aplicação como fase sortiva SBSE e, com isso, não foram avaliadas nas etapas subsequentes do trabalho.

5.2.2 Criogéis

Os hidrogéis que passaram por ciclos de congelamento e descongelamento (criogéis), apresentaram características satisfatórias de imobilização no vidro e estabilidade mecânica.

Considerou-se que o gel apresentou aderência ao vidro quando foi possível depositá-lo no invólucro da barra magnética. Já o critério de homogeneidade foi determinado pela observação, a olho nu, da superfície gelificada e se esta aparentava constituição uniforme. Por fim, a estabilidade foi avaliada pela ocorrência, ou não, do desprendimento macroscópico ou perda do material durante o tempo de agitação em cada solvente: água e metanol. A estabilidade em água foi avaliada pelo fato de as matrizes estudadas (biológicas e ambientais) serem aquosas. Já o metanol foi escolhido devido a ser uma fase orgânica comumente empregada na dessorção líquida na técnica de SBSE (KAWAGUCHI et al., 2006; PRIETO et al., 2010; VÁLLEZ-GOMIS et al., 2021).

Foram preparados sete diferentes tipos de criogel com combinações e concentrações das dispersões poliméricas baseadas em trabalhos realizados anteriormente no grupo de pesquisa (SAMPAIO et al., 2019) ou encontrados na literatura (BARANDIARAN et al., 2020; PAPANCEA; PATACHIA; DOBRITOIU, 2015; YOKOYAMA et al., 1986). Os trabalhos que relatam preparo de hidrogel tiveram as condições adaptadas para obtenção de criogel aplicando-se ciclos de congelamento/descongelamento.

Considerando-se apenas os valores dos reagentes (PVOH, Alg, Z e ácido cítrico consultados em junho/2023) calculou-se que os custos para preparo de cada dispositivo SBSE com fases baseadas em criogel são encontrados na faixa de R\$ 0,05 a R\$ 0,10 reais (apenas 5 e 10 centavos de real).

Não foram considerados outros materiais empregados no dispositivo (prego e vidro) pelo fato de terem sido produzidos pelo Laboratório de Hialotecnica da UFPR reaproveitando materiais e produzindo barras de vidro que puderam ser reutilizadas diversas vezes. Cada criogel preparado e avaliado é apresentado na TABELA 5.

TABELA 5 - COMPOSIÇÃO, ADERÊNCIA AO VIDRO E ESTABILIDADE DE CRIOGÉIS PREPARADOS

Criogel	Composição e concentração (m/v)		Agente reticulante	Aderência ao vidro	Homogeneidade	Estabilidade em H ₂ O	Estabilidade em MeOH
1 ^a	PVOH 10%		Não	Sim	Sim	Sim	Sim
2 ^{b,c}	PVOH 10 e 20%		Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
3 ^b	PVOH 10 e 20%	Pectina 1,0 e 2,0%	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
4 ^b	PVOH 10 e 20%	Alginato 1,0; 2,0%	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
5	PVOH 10%	Alginato (sólido) 98:2 (m/m)	Não	Sim	Sim	Sim	Sim
6 ^d	PVOH 10 e 20%	Zeína (sólido) 99:1; 98:2; 97:3 (m/m)	Não	Sim	Não	Sim	Sim
7	PVOH 10%	Zeína (sólido) 97:3 (m/m)	Sim	Sim	Não	Sim	Sim

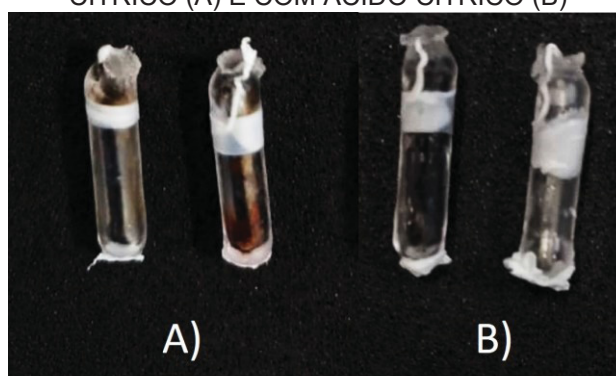
PVOH: poli (álcool vinílico). Sínteses fundamentadas nos trabalhos de ^a Yokoyama et al., (1986); ^b Sampaio et al., (2019), ^c Barandiaran et al., (2020) e ^d Papancea; Patachia; Dobritoiu, (2015).

FONTE: A autora (2022).

5.2.2.1 Criogéis de PVOH

Ambos os tipos de criogéis de PVOH (com e sem agente reticulante) apresentaram estabilidade nos solventes avaliados (criogéis 1 e 2), além de aspectos visuais bastante semelhantes, não sendo possível detectar, a olho nu, diferenças (FIGURA 19).

FIGURA 19: BARRAS COM CRIOGEL DE PVOH NA CONCENTRAÇÃO 10% (m/v) SEM ÁCIDO CÍTRICO (A) E COM ÁCIDO CÍTRICO (B)



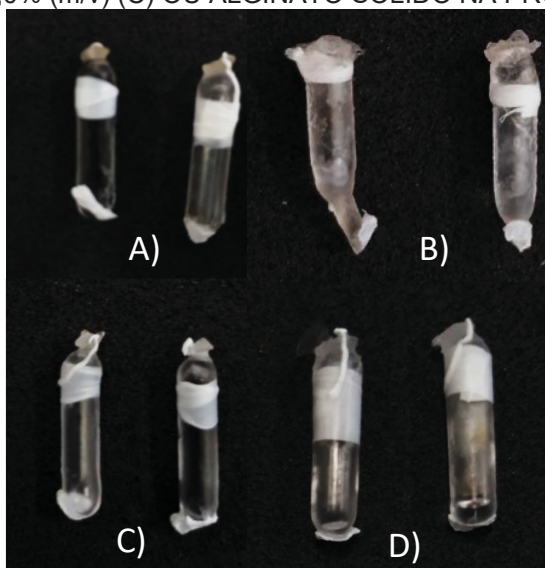
FONTE: A autora (2022)

5.2.2.2 Criogéis de PVOH/ Pectina e PVOH/Alginato

Os criogéis binários de poli (álcool vinílico) com pectina ou alginato (3 a 5 da TABELA 5) empregaram dispersões de diferentes concentrações 10; 15; 20 e 30% (m/v) para o primeiro polímero e concentrações de 1,0 e 2,0% (m/v) para os demais. Em todos os casos foi possível a obtenção de um criogel com características satisfatórias de aderência ao vidro e homogeneidade suficiente, além de estabilidades física e química.

Na FIGURA 20 são apresentados exemplos de criogéis de PVOH/pectina e PVOH/alginato com diferentes concentrações.

FIGURA 20: BARRAS DE CRIOGEL DE PVOH E PECTINA NAS CONCENTRAÇÕES DE, RESPECTIVAMENTE, 10% E 1,0% (m/v) (A), 30% E 2,0% (m/v) (B), DE PVOH 10% COM ALGINATO DE SÓDIO 2,0% (m/v) (C) OU ALGINATO SÓLIDO NA PROPORÇÃO 98:2 (m/m) (D)



FONTE: A autora (2022)

Também foram confeccionadas barras com criogel constituído por PVOH 10% (m/v) e alginato na forma sólida, na proporção de 98:2 (m/m) sem adição de agente reticulante (FIGURA 20 D). Conforme apresentado na TABELA 5, este criogel também permaneceu estável na barra após os períodos de agitação em água e metanol. Entretanto, apesar de empregar o alginato em pó, não foi observada uma superfície heterogênea com a presença das partículas do polímero natural.

5.2.2.3 Criogéis de PVOH/ Zeína

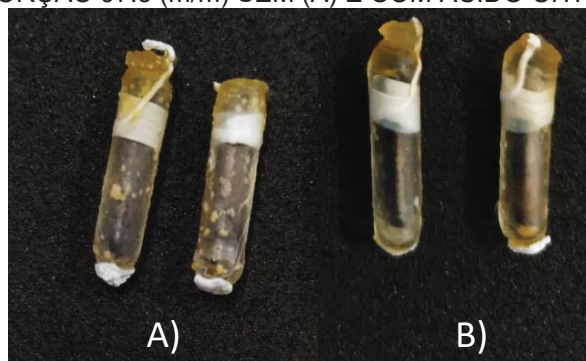
Ao contrário dos polímeros pectina e alginato de sódio, a zeína apresenta baixa solubilidade em água. Desta forma, para que fosse possível a formação de uma blenda polimérica com a dispersão aquosa de PVOH, foi preparada a

dispersão desta proteína numa mistura de água e etanol (3:7 v/v), baseando-se em Castilhos et al., (2017).

Entretanto, essa tentativa de preparo de criogel PVOH/zeína (concentrações de 20 e 2,0% m/v respectivamente) não teve êxito como as demais tentativas discutidas anteriormente. Após os ciclos de congelamento/descongelamento, foi obtido um gel com aspecto bastante líquido que não permaneceu imobilizado no vidro. Possíveis justificativas seriam a presença de etanol e a necessidade de evaporação deste solvente durante o preparo do gel e/ou, também, o emprego de agente reticulante como o ácido cítrico ou glutaraldeído.

Como alternativa, fundamentado no trabalho de Papancea; Patachia; Dobritoiu, (2015), avaliou-se a adição da zeína em pó diretamente na dispersão de PVOH (criogéis 6 e 7 da TABELA 5). As proporções avaliadas foram 99:1, 98:2 e 97:3 (m/m) de PVOH (10 e 20% m/v) e zeína, respectivamente. Originalmente não houve a adição de qualquer agente reticulante (FIGURA 21 A) mas também verificou-se o efeito da adição do ácido cítrico (FIGURA 21 B) no criogel preparado na proporção de 97:3 (m/m).

FIGURA 21: BARRAS DE CRIOGEL CONSTITUÍDOS POR PVOH 10% m/v E ZEÍNA NA PROPORÇÃO 97:3 (m/m) SEM (A) E COM ÁCIDO CÍTRICO (B)



FONTE: A autora (2022)

Observou-se que ambos os criogéis (com e sem ácido cítrico) apresentaram coloração amarelada devido à presença das partículas de zeína que possuem esta cor. Entretanto, quando se empregou o agente reticulante não foram observadas as partículas de zeína, obtendo-se um gel mais homogêneo.

Em resumo, foi possível a obtenção de sete diferentes criogéis com os polímeros naturais alginato, pectina e zeína combinados, na forma de dispersão aquosa ou em pó, com o polímero sintético PVOH, com ou sem a adição de agente reticulante. Porém, foram selecionados apenas os quatro primeiros criogéis

preparados (TABELA 6) para avaliação como fases sorventes com ensaios, dentre outros, de eficiência de extração, além da caracterização físico-química.

TABELA 6 – COMPOSIÇÃO POLIMÉRICA E CONCENTRAÇÃO DE AGENTE RETICULANTE DOS CRIOGÉIS SELECIONADOS

Criogel	PVOH (% m/v)	Alginato (% m/v)	Pectina (% m/v)	Ácido cítrico (% m/m)	Zeína (proporção m/m)
PVOH (P)	10 e 20	-	-	10	-
PVOH/Alg (PA)	10 e 20	1,0 e 2,0	-	10	-
PVOH/Pec (PP)	10 e 20	-	1,0 e 2,0	10	-
PVOH/Z (PZ)	10 e 20	-	-	0	99:1; 98:2 e 97:3

FONTE: A autora (2023)

5.3 ENSAIOS DE EXTRAÇÃO

Para avaliar a aplicabilidade dos criogéis como fases sortivas foram realizados ensaios de extração em água ultrapura com dessorção em metanol em banho ultrassônico. As condições selecionadas de, por exemplo, tempos de extração e dessorção, volumes de amostra e solvente não foram otimizadas e, por isso, possivelmente não correspondem às condições ótimas (maior eficiência de extração). Entretanto, por não se tratar do foco do trabalho, a otimização destes parâmetros não foi realizada, mas certamente deve ser levada em consideração no caso do desenvolvimento de uma metodologia analítica.

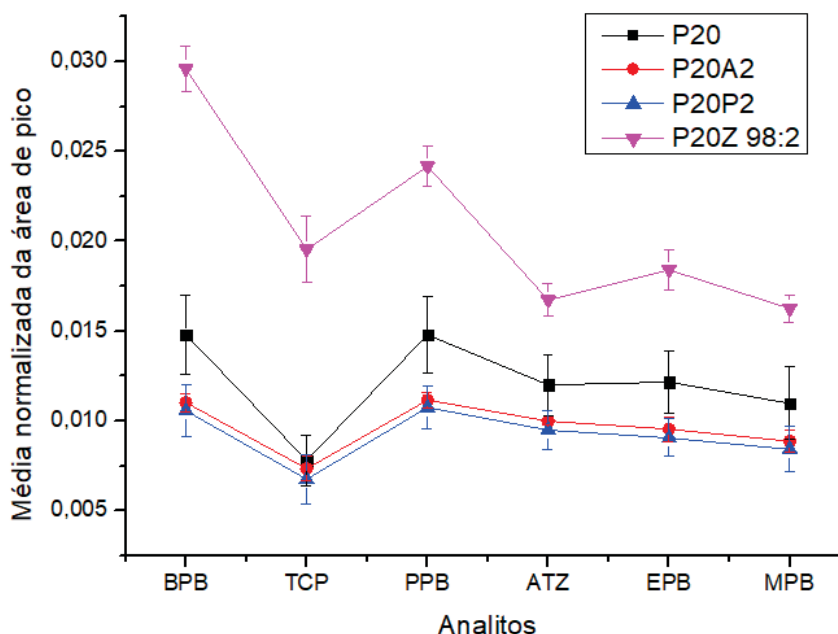
5.3.1 Eficiência de extração de diferentes composições poliméricas

Experimentos preliminares foram realizados empregando PVOH na concentração de 20% (m/v) em todos os criogéis, seja de forma isolada ou combinada com pectina ou alginato a 2,0% m/v ou PVOH 98% e zeína 2,0% (m/m). O objetivo foi o de averiguar se algum dos criogéis seria capaz de realizar a sorção de um dos analitos.

Para discussão dos resultados da eficiência de extração de cada fase foram considerados os valores normalizados, ou seja, os obtidos pela razão da média da área de pico de cada analito após extração (n=3) pela média da área de pico do respectivo composto após injeção da mistura de padrões na mesma concentração (n=3). Os analitos são apresentados em ordem decrescente dos valores de log $K_{o/w}$ (TABELA 1 da seção 2.4 DESREGULADORES ENDÓCRINOS).

Foi constatado positivamente (FIGURA 22) que todos os quatro criogéis possibilitaram a extração dos compostos estudados, confirmando a aplicabilidade como fase sorvente para SBSE.

FIGURA 22: GRÁFICO DA MÉDIA NORMALIZADA DA ÁREA DE PICO (N=3) DOS ANALITOS ($2,0 \text{ mg L}^{-1}$) APÓS SBSE COM CRIOGEL P20, P20A2, P20P2 E P20Z 98:2 (m/m)



P20: PVOH 20% (m/v); **P20A2:** PVOH 20% (m/v) e alginato 2,0% (m/v); **P20P2:** PVOH 20% (m/v) e pectina 2,0% (m/v); **P20Z:** PVOH 20% (m/v) e zeína sólida na proporção 98:2 (m/m).
 FONTE: A autora (2022).

No gráfico da FIGURA 22 é possível observar que, para todos os analitos, a composição de poli (álcool vinílico) e zeína (P20Z) se diferenciou das demais, sendo confirmado por tratamentos estatísticos (ANOVA de fator duplo $\alpha=0,05$). Essa fase apresentou respostas da média normalizada que são, em média, o dobro da resposta obtida para as demais fases.

Pelo fato desta ser a única fase que apresenta o polímero natural na forma sólida e não empregar ácido cítrico, cogita-se que este destaque possa ser justificado pela maior disponibilidade de sítios de interação em ambos os polímeros da blenda. Isso porque na zeína há diferentes resíduos de aminoácidos que possibilitariam uma maior diversidade ou, talvez, a presença particular de um determinado sítio para sorção dos analitos avaliados. E, no caso do PVOH, aqui sem a reticulação com o ácido cítrico, haveria mais hidroxilas disponíveis para interação.

Observando as demais fases é possível constatar que, de forma geral, a P20 se sobressai com relação às P20A2 e P20P2, demonstrando que a adição de

qualquer um desses dois polímeros naturais acarreta um decréscimo da resposta da área de pico. Também se constata que as fases contendo alginato ou pectina não apresentaram diferença significativa entre si ($F=2,27$ e $F_{\text{crítico}}=4,26$) e são os de menor eficiência de sorção.

Considerando novamente a hipótese de disponibilidade de sítios de sorção, pode-se cogitar que os pontos de interação disponíveis no gel monofásico interagem com o copolímero quando formada a blenda. Nesse caso, a adição do segundo polímero não fornece um número suficiente de novos sítios para resultar numa maior eficiência de extração.

Além disso, outra justificativa poderia se basear no fato de que nas cadeias poliméricas de alginato de sódio e pectina há uma presença relevante de grupos ácidos que, nas condições de pH da água ultrapura (entre 6 e 7), estariam desprotonados. Isso faria com que ocorresse repulsão entre as cargas negativas dos carboxilatos, acarretando o afastamento das cadeias poliméricas e permitindo uma difusão dos analitos na matriz ao invés da interação com os sítios de sorção.

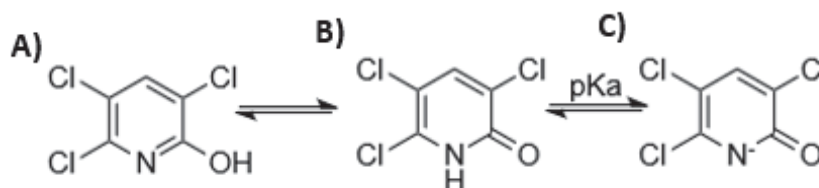
5.3.2 Eficiência de extração de cada analito

Comparando-se os analitos extraídos por uma mesma fase foi possível obter informações a respeito da afinidade de cada gel com os diferentes tipos de compostos estudados.

Pelo gráfico da FIGURA 22 constatou-se que todas as fases apresentaram um comportamento similar para sorção dos analitos, sendo observado um decréscimo da eficiência de extração conforme diminui-se o valor do $\log K_{o/w}$, do BPB até o EPB. Usando este parâmetro como indício da polaridade, tem-se que as quatro fases são mais efetivas para extrair o composto mais apolar, o BPB, e há uma diminuição conforme aumenta-se a polaridade. Entre os mais polares, EPB, MPB e a ATZ, não houve diferença significativa entre as respostas (ANOVA fator único e teste de Tukey $\alpha=0,05$).

Destaca-se, desta maneira, o analito TCP por apresentar um valor do coeficiente de partição octanol/água relativamente alto ($\log K_{o/w}$ de 3,21) em comparação com os demais analitos e a menor eficiência de extração. Investigando-se este agrotóxico, é constatada a presença do grupo piridinol na molécula (FIGURA 23 A), o qual, conforme encontrado na literatura (HITES, 2021; VASUDEVAN; DORLEY; ZHUANG, 2001), sofre tautomerismo cetoenólico.

FIGURA 23: ESTRUTURAS QUÍMICAS DO 3,5,6-TRICLORO-2-PIRIDINOL (A), SEU TAUTÔMERO (B) E ESPÉCIE DESPROTONADA (C)



FONTE: Hites, (2021) e Chemicalize (ChemAxon,2022)

Desta forma, há o tautômero ceto (FIGURA 23 B) que é a espécie predominante em valores de pH abaixo do pKa ou pode ocorrer desprotonação e a formação da espécie aniônica quando em pH acima do pKa (FIGURA 23 C).

Com relação ao valor do pKa deste composto, são encontradas divergências na literatura. Por exemplo, no trabalho de Shemer; Sharpless; Linden, (2005) é relatado o valor de 4,55, enquanto em simulações da ChemAxon encontra-se o valor de pKa 6,54. De forma geral, entretanto, a condição de extração em água ultrapura (pH~6) aplicada nos ensaios já apresentaria em solução a espécie desprotonada, considerando-se ambos os valores. A diferença seria, evidentemente, com relação à magnitude da porcentagem da espécie carregada negativamente.

Há consenso, porém, na consideração do TCP como uma substância polar (LI et al., 2014; SHEMER; SHARPLESS; LINDEN, 2005; XIONG et al., 2013) sendo possível encontrar o valor de $\log K_{o/w} = 1,3$ quando em pH 7 (SHEMER; SHARPLESS; LINDEN, 2005). Assim, estas informações corroboram a observação experimental de baixa eficiência de extração que foi similar, por exemplo, ao metilparabeno ($\log K_{o/w} = 1,96$).

Cabe destacar que todas as quatro fases avaliadas apresentaram um comportamento de sorção satisfatoriamente abrangente. Isso porque cada uma das fases possibilitou, em diferentes magnitudes, a extração de todos os seis compostos avaliados apesar destes apresentarem propriedades distintas. Considerando, por exemplo, a polaridade com base nos valores de $\log K_{o/w}$, foi possível contemplar a faixa de 1,3 a 3,57 (TCP e BPB, respectivamente). Outras diferenças relevantes que podem ser destacadas são a variedade de grupos funcionais presentes nas moléculas estudadas (fenol, éster, amina, piridinol, haletos de alquila, entre outros) e a larga faixa de solubilidade em água de 35 a 2500 mg L⁻¹ (a 20 ou 25 °C da atrazina e metilparabeno, respectivamente).

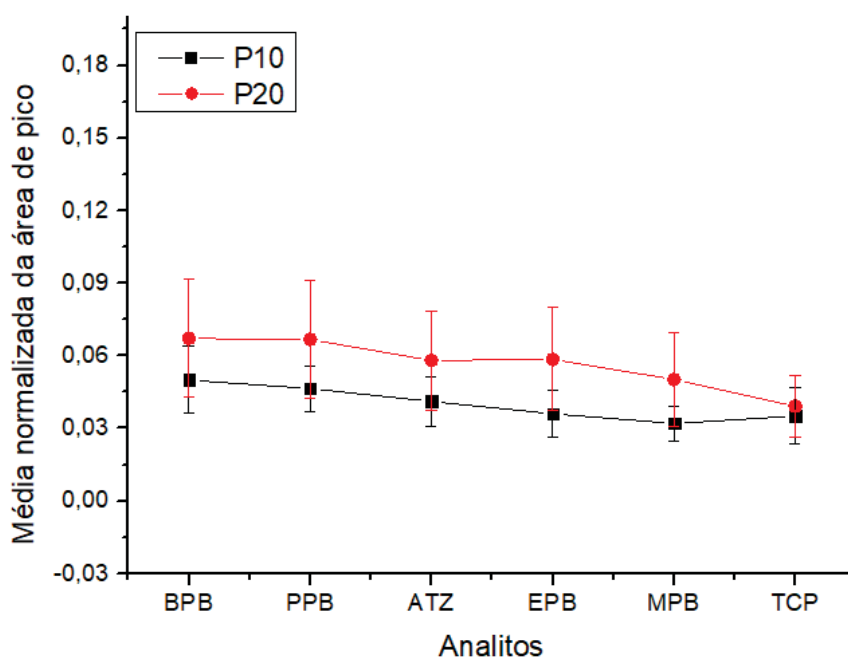
Entretanto, é evidente que a sorção das fases ocorre preferencialmente com os compostos menos polares. Isso pode dar indícios que a interação molecular predominante seria a hidrofóbica, apesar de todas as fases serem compostas por pelo menos um polímero hidrofílico. Esta hipótese é corroborada pela eficiência de extração significativamente maior da fase contendo zeína, uma vez que esta proteína possui, predominantemente, resíduos de aminoácidos pouco polares (HASANZADEH; FARHADI; TAJIK, 2021). Para os parabenos, por exemplo, possivelmente seria o grupo alquil o responsável por interação com o sorvente, resultando numa maior interação quanto maior a cadeia (grupo butil).

No caso dos sítios mais polares como os resíduos de glutamina na zeína e hidroxilas e/ou carboxilas no PVOH, alginato e pectina, a sorção com a fase não é tão expressiva. Isso, provavelmente, é em decorrência da competição da interação polar dos analitos com as moléculas de água da matriz. Como resultado, para todas as fases avaliadas, a interação hidrofóbica, provavelmente, se destaca e há um decréscimo pronunciado na eficiência de extração para o TCP que é o mais polar.

5.3.3 Efeito da concentração do poli (álcool vinílico)

Para avaliar o efeito da concentração de PVOH foram empregadas dispersões deste polímero na concentração de 10 e 20% (m/v) (FIGURA 24).

FIGURA 24: GRÁFICO DA MÉDIA NORMALIZADA DA ÁREA DE PICO (N=3) DOS ANALITOS (2,0 mg L⁻¹) APÓS SBSE COM CRIOGÉIS P10 E P20



P10: PVOH 20% (m/v); P20: PVOH 20% (m/v).

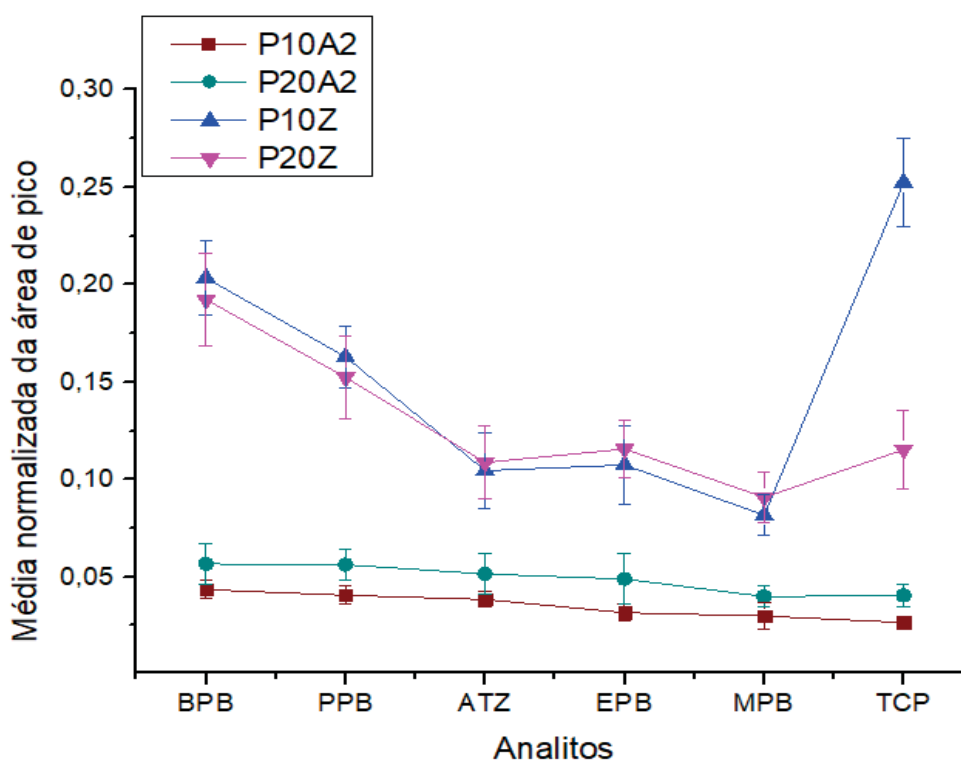
FONTE: A autora (2022)

Foi constatado pela análise de variância de fator duplo com significância de 5% que há diferença significativa entre as composições avaliadas ($F=9,09$; $F_{\text{crítico}}=4,26$). Neste caso, observa-se que uma maior concentração de poli (álcool vinílico) acarreta maior eficiência de sorção mas, também, apresenta maiores valores de desvios padrão (RSD% médio de 35,79% com faixa entre 32,41% para TCP e 38,31% para MPB). Já para a concentração de 10% (m/v) a porcentagem do coeficiente de variação obtida foi de 19,97% para o PPB e 32,77% para TCP, com um valor médio de 25,91% com relação a todos os analitos.

Assim, considerou-se que este acréscimo na extração não é relevante a ponto de justificar a aplicação de uma maior massa de polímero sintético, aumentando o custo e o tempo de preparo (foi observado que quanto maior a concentração, mais tempo é necessário para obtenção da dispersão e maior viscosidade é observada) de cada dispositivo.

Também foram realizados os ensaios com fases sortivas de PVOH 10 e 20% (m/v) com alginato 2,0% (m/v) (P10A2 e P20A2, respectivamente) e com zeína sólida (P10Z e P20Z, respectivamente) na proporção de 98:2 (m/m) (FIGURA 25).

FIGURA 25: GRÁFICO DA MÉDIA NORMALIZADA DA ÁREA DE PICO (N=3) DOS ANALITOS ($2,0 \text{ mg L}^{-1}$) APÓS SBSE COM CRIOGÉIS DE ALG E Z



P10A2: PVOH 10% (m/v) e alginato 2,0% (m/v); **P20A2:** PVOH 20% (m/v) e alginato 2,0% (m/v);
P10Z: PVOH 10% (m/v) e zeína sólida na proporção 98:2 (m/m);
P20Z: PVOH 20% (m/v) e zeína sólida na proporção 98:2 (m/m).

FONTE: A autora (2022)

Comparando-se as fases contendo alginato empregando as duas concentrações de PVOH também foi verificado que há diferença significativa (ANOVA fator duplo 5%; $F=32,13$; $F_{\text{crítico}}=4,26$). Entretanto, novamente, o incremento na sorção alcançado com a maior concentração do polímero PVOH não é tão expressivo.

Já na análise dos resultados com a fase sortiva de zeína foi constatado um aumento da área de pico do TCP. Acredita-se que este aumento seja uma anomalia, uma vez que diversos ensaios (anteriores e posteriores) aplicaram criogéis com a mesma composição e não se observou uma média de área de pico significativa desta maneira. Desconsiderando-se este analito, a ANOVA de fator duplo ($\alpha=0,05$) confirmou que não há diferença significativa entre as duas fases ($F=1,48 \times 10^{-5}$; $F_{\text{crítico}}=4,35$), destacando que, neste caso, a zeína é a principal responsável pela sorção.

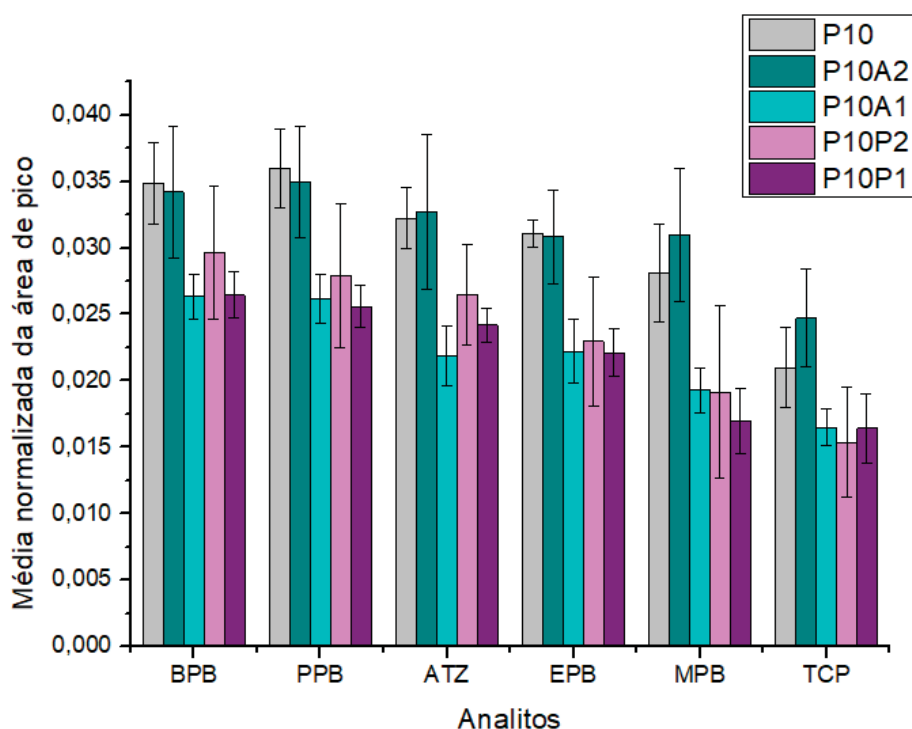
Em todos os ensaios foi possível verificar que os valores de desvio da triplicata das fases de maior concentração de PVOH foram maiores. Além disso, foram encontradas dificuldades experimentais de manuseio da dispersão de 20% (m/v) devido à maior viscosidade. Aconteceram, por exemplo, o borbulhamento de misturas poliméricas e/ou desnaturação da zeína quando tentou-se aquecer a dispersão de forma a diminuir a viscosidade.

Desta forma, para os testes subsequentes optou-se pela utilização da dispersão de PVOH 10% (m/v). Isto baseou-se no objetivo de empregar menor quantidade de polímero sintético nos dispositivos e as observações de aumento da eficiência de sorção pouco expressivo além das dificuldades de manuseio e aumento do tempo de preparo da dispersão.

5.3.4 Efeito da concentração de alginato e pectina

Mantendo constante a concentração de PVOH em 10% (m/v), foi realizada a comparação entre as dispersões de alginato e pectina de 1,0 e 2,0% (m/v) (FIGURA 26).

FIGURA 26: GRÁFICO DA MÉDIA DA ÁREA DE PICO (N=3) DOS ANALITOS (2,0 mg L⁻¹) APÓS EXTRAÇÃO POR SBSE COM FASES DE CRIOGEL P10, P10A1, P10A2, P10P1 E P10P2



P10: PVOH 20% (m/v); **P10A1:** PVOH 10% (m/v) e alginato 1,0% (m/v);
P10A2: PVOH 10% (m/v) e alginato 2,0% (m/v); **P10P1:** PVOH 10% (m/v) e pectina 1,0% (m/v);
P10P2: PVOH 10% (m/v) e pectina 2,0% (m/v)
 FONTE: A autora (2022)

Comparando-se P10A2 e P10A1 foi observado um aumento da média normalizada da área de pico de todos os analitos quando empregada a maior concentração da dispersão de alginato de sódio (ANOVA fator duplo 5% $F=63,62$, $F_{\text{crítico}}=4,26$). Isso dá indícios de que uma maior concentração deste polímero, possivelmente, acarreta uma maior disponibilidade de sítios de sorção que podem interagir com os compostos avaliados.

Porém, o mesmo comportamento não é observado no caso da pectina (P10P2 e P10P1), sendo observada equivalência da resposta em ambas as concentrações (ANOVA fator duplo 5% $F=1,63$, $F_{\text{crítico}}=4,26$). Uma possível justificativa seria que, nestas concentrações avaliadas, a pectina não fornece pontos de sorção suficientes e/ou significativos para interferir no mecanismo de interação com os analitos.

Outros cenários avaliados foram os de comparação entre as fases com os dois biopolímeros nas mesmas concentrações. Quando empregada a dispersão com maior massa (P10A2 e P10P2) foi observado que há diferença significativa entre as fases (ANOVA fator duplo 5% $F=23,76$, $F_{\text{crítico}}=4,26$). Este é um resultado interessante já que no ensaio da seção 5.3.1 “Eficiência de extração de diferentes

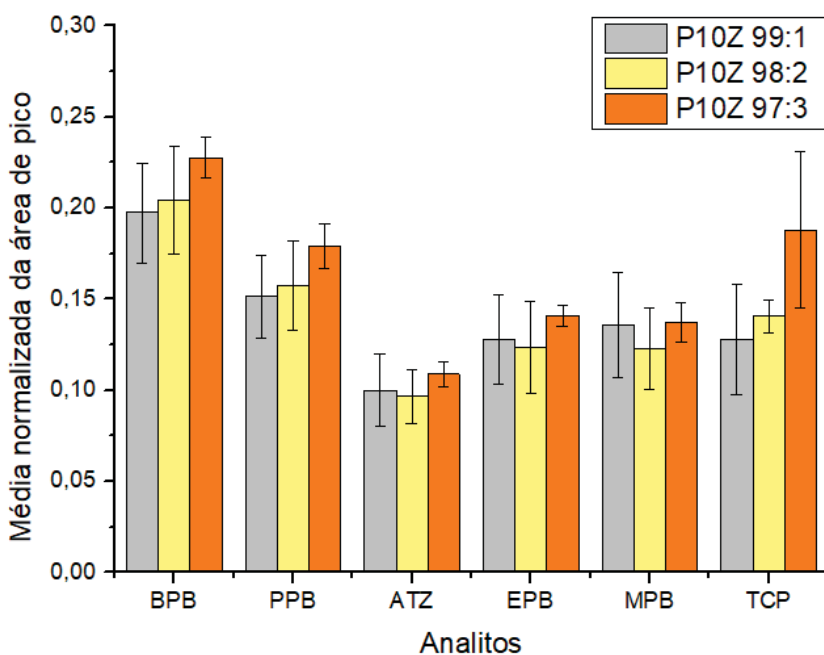
composições poliméricas”) foi verificada uma equivalência entre as eficiências de extração das fases de alginato e pectina nesta mesma concentração de 2,0% (m/v). A diferença foi a concentração de PVOH que, anteriormente, foi de 20% (m/v) e agora foi aplicada a de 10 % (m/v).

Já quando a concentração dos polímeros naturais foi de 1,0% (m/v) a equivalência entre as eficiências de sorção volta a ser observada (ANOVA fator duplo 5% $F=0,027$, $F_{\text{crítico}}=4,26$). Tem-se então o efeito da proporção entre os polímeros da blenda destas fases. Quando o PVOH apresenta concentração dez vezes maior que a do alginato ou pectina (10:1), as fases com estes dois polímeros apresentam equivalência. Já quando a proporção entre o poli (álcool vinílico) e alginato/pectina cai pela metade (5:1), tem-se que o alginato se sobressai significativamente em relação à pectina.

5.3.5 Efeito da proporção entre poli (álcool vinílico) e zeína

Uma vez que, dentre as quatro fases avaliadas, o criogel composto por PVOH e zeína apresentou maior eficiência de extração, fez-se a avaliação da influência da proporção entre estes polímeros no gel. Para isto foram preparados criogéis de PVOH (10% m/v) e zeína nas proporções de 99:1, 98:2 e 97:3 (m/m), respectivamente (FIGURA 27).

FIGURA 27: GRÁFICO DA MÉDIA DA ÁREA DE PICO (N=3) DE CADA ANALITO (2,0 mg L⁻¹) APÓS EXTRAÇÃO POR SBSE COM CRIOGÉIS P10Z 99:1; 98:2 E 97:3 (m/m)



P10Z: PVOH 10% (m/v) e zeína sólida nas proporções 99:1, 08:2 e 97:3 (m/m)

FONTE: A autora (2022)

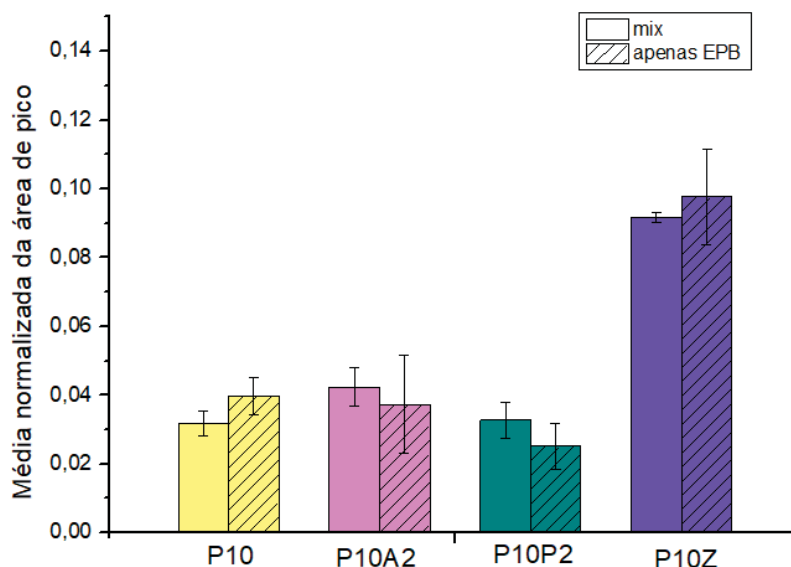
Com o tratamento estatístico (ANOVA de fator duplo $\alpha=0,05$) foi constatado que há diferença significativa entre as três proporções avaliadas ($F_{\text{crítico}}=3,26$; $F=6,21$). O destaque deste resultado é a obtenção de uma maior eficiência de sorção da fase com maior quantidade do polímero que é natural e obtido como co-produto industrial.

As proporções de PVOH:zeína de 99:1, 98:2 e 97:3 (m/m) utilizam 20; 40 e 60 mg, respectivamente, de zeína. Composições de fase sortiva com massas maiores de zeína não foram testadas pelo fato de ser necessário adicionar quantidades elevadas desta proteína, o que dificultaria bastante o processo mistura com a dispersão de PVOH. Por exemplo, numa proporção de 90:10 (m/m) de PVOH:zeína seriam utilizados 200 mg desta última para totalizar 2,0 g da mistura polimérica. Desta forma, foi estabelecido que a maior massa de zeína seria a aplicada na proporção de 97:3 (m/m).

5.3.6 Investigação do comportamento sortivo

A fim de obter informações que colaborassem na investigação do mecanismo de interação (adsorção ou absorção, por exemplo) foram realizados novos ensaios de extração com todas as fases sortivas para SBSE. Para isso foi considerada a área de pico da extração do analito etilparabeno (EPB) quando na presença dos demais compostos (solução mix de $5,0 \text{ mg L}^{-1}$) e de forma isolada com a mesma concentração (FIGURA 28).

FIGURA 28: GRÁFICO DA MÉDIA DA ÁREA DE PICO (N=3) DO EPB ($5,0 \text{ mg L}^{-1}$) APÓS SBSE



P10: PVOH 20% (m/v); **P10A2:** PVOH 10% (m/v) e alginato 2,0% (m/v); **P10P2:** PVOH 10% (m/v) e pectina 2,0% (m/v); **P10Z:** PVOH 10% (m/v) e zeína sólida na proporção 97:3 (m/m).

FONTE: A autora (2023)

A escolha do EPB foi realizada por este composto apresentar propriedades físico-químicas (como solubilidade em água e $\log K_{o/w}$) consideradas intermediárias em comparação com os demais analitos.

Para análise dos resultados de comparação da sorção do EPB isolado ou na presença dos outros analitos foi realizado inicialmente o teste F para análise de variância com significância de 5%. Obteve-se que, com exceção da variância da fase P10Z, as demais são estatisticamente equivalentes uma vez que o F foi inferior ao $F_{crítico}$ ($F_{crítico}=19$; $F_{P10}= 2,24$; $F_{P10A2}= 6,58$, $F_{P10P2}= 1,58$, $F_{P10Z}= 86,86$).

Realizou-se, então, o teste t para variâncias diferentes para a fase P10Z e de variâncias equivalentes para as demais e em todos os casos foi aceita a hipótese de que as médias de área de pico do EPB em ambos os cenários são iguais ($t_{P10}= 2,09$; $t_{P10A2}= 0,56$; $t_{P10P2}= 1,57$; $t_{crítico\ bi-caudal}=2,78$; $t_{P10Z\ t}= 0,74$; $t_{crítico\ bi-caudal}=4,30$).

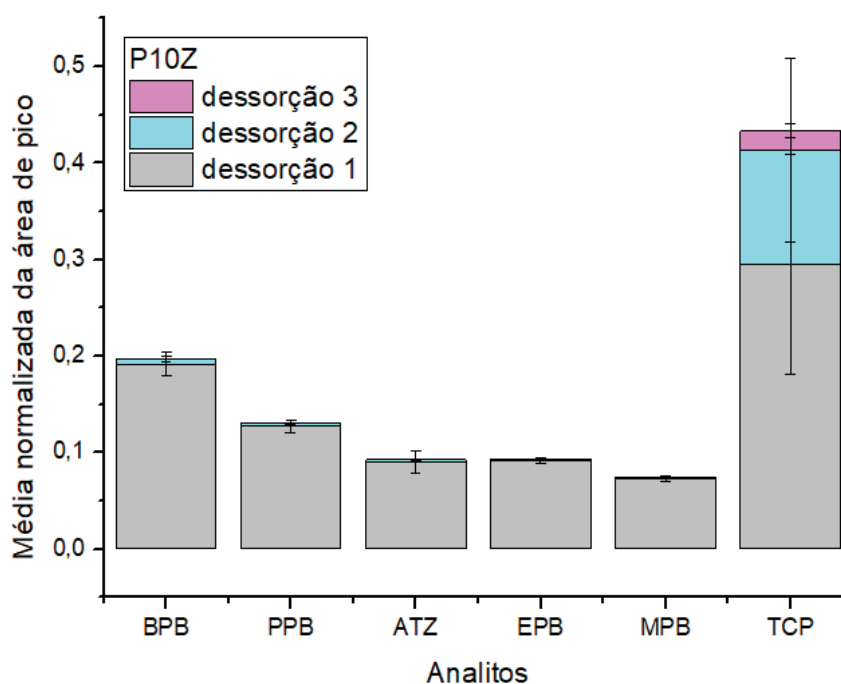
Assim, pelo fato de não haver diferença significativa entre os cenários avaliados, pode-se inferir que há um número suficiente de sítios para interação ou que o mecanismo predominante seja o de absorção com o preenchimento de poros ou cavidades do material.

5.3.7 Dessorções consecutivas

Considerou-se necessário verificar também se a etapa de dessorção realizada após a extração era de fato efetiva e suficiente, ou seja, que todo o analito extraído era de fato dessorvido do material sorvente para posterior análise cromatográfica. Para isso, foi avaliado se o emprego de três dessorções consecutivas com 2,0 mL de metanol por 30,0 minutos em banho ultrassônico apresentava um acréscimo de área de pico dos analitos.

O ensaio foi realizado com as quatro fases sortivas e todas apresentaram comportamentos semelhantes e por isso optou-se por apresentar apenas o resultado da fase P10Z de forma ilustrativa (FIGURA 29). É possível constatar que, de forma geral, a primeira dessorção já é suficiente para obtenção do extrato contendo a maior parte dos analitos extraídos (dessorção quantitativa). O incremento da média normalizada da área de pico obtida com a segunda dessorção é na faixa de 1,58 a 2,56% para todos os analitos com exceção do TCP. O resultado indica que apenas uma etapa de dessorção é suficiente e que, provavelmente, o solvente empregado (metanol) é eficaz no rompimento das interações de sorção.

FIGURA 29: GRÁFICO DA MÉDIA DA ÁREA DE PICO (N=3) APÓS EXTRAÇÃO SBSE COM CRIOGEL P10Z E TRÊS DESSORÇÕES CONSECUTIVAS



P10Z: PVOH 10% (m/v) e zeína sólida na proporção 97:3 (m/m).

FONTE: A autora (2023)

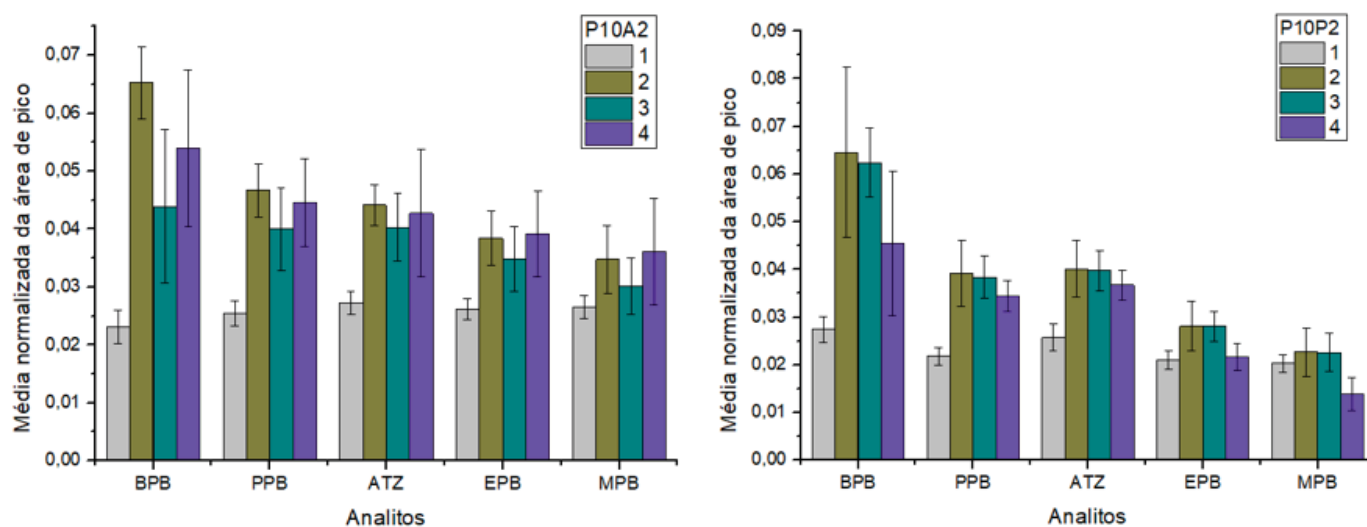
Já o TCP apresentou uma área de pico expressiva para todas as três dessorções com valores elevados de desvios relativos (36 a 80,6%). Com os resultados discutidos nas seções anteriores, sabe-se que a eficiência de sorção para o TCP é significativamente menor em comparação com os demais analitos, porém o observado demonstra novamente a ocorrência de um comportamento anômalo na extração desta substância.

Possivelmente, este comportamento atípico é consequência da tautomeria desse composto, contudo não foi possível encontrar particularidades das condições de SBSE que justificassem essa variação da resposta (a qual passou a ocorrer com frequência no decorrer do trabalho). Baseando-se nestas discrepâncias injustificadas na resposta, os resultados obtidos para o composto 3,5,6-tricloro-2-piridinol serão desconsiderados nas discussões subsequentes.

5.3.8 Reutilização dos dispositivos SBSE

Para avaliar a possibilidade de reutilização das barras recobertas com as fases sortivas de criogel foram realizados no mínimo quatro ciclos de extração/dessorção em triplicata. Na FIGURA 30 são apresentados os resultados de cada uma das quatro utilizações das barras contendo PVOH combinado com os biopolímeros alginato de sódio ou pectina cítrica.

FIGURA 30: GRÁFICO DA MÉDIA DA ÁREA DE PICO (N=3) DOS ANALITOS (5,0 mg L⁻¹) APÓS QUATRO EXTRAÇÕES SBSE CONSECUTIVAS COM CRIOGEL P10A2 E P10P2



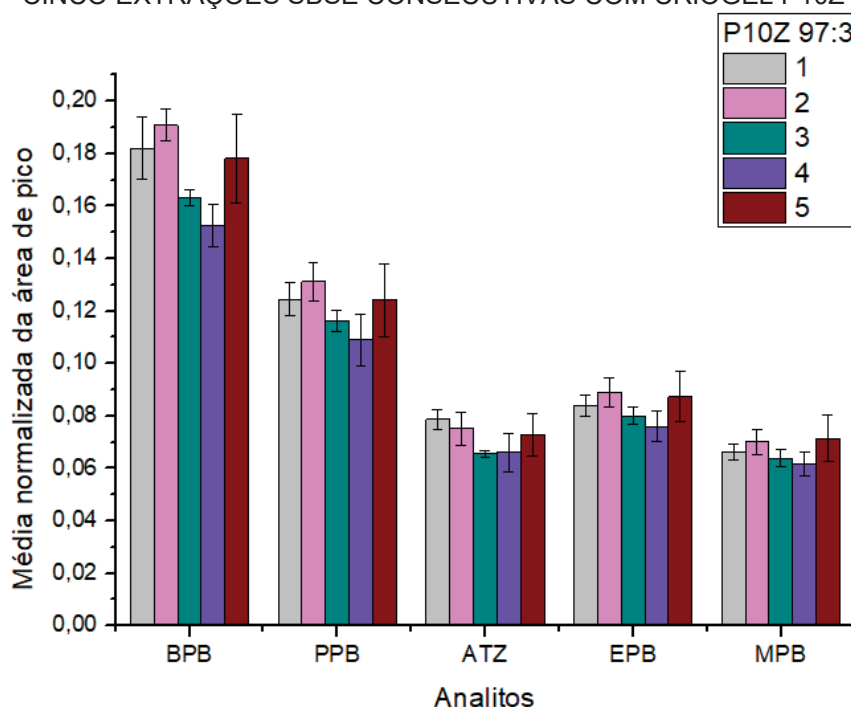
P10A2: PVOH 10% (m/v) e alginato 2,0% (m/v); **P10P2:** PVOH 10% (m/v) e pectina 2,0% (m/v)
 FONTE: A autora (2023)

É possível observar em ambos os criogéis uma tendência de aumento da eficiência de extração a partir da segunda utilização. Isso pode indicar um possível efeito memória ou ser decorrência do intumescimento da barra após a primeira utilização. Com a análise de variância de fator duplo, confirmou-se que as duas fases apresentam diferença significativa com as quatro utilizações ($F_{P10A2}=24,87$; $F_{P10P2}=18,98$; $F_{crítico}=2,84$).

A hipótese do efeito memória foi descartada ao ser observado que, a cada utilização do dispositivo SBSE (a partir da segunda utilização), não ocorre um incremento na média da área de pico. Ao contrário, é verificada uma tendência de resposta constante ou decréscimo. Esse decréscimo pode ser atribuído, possivelmente, às variações de intumescimento ou aprisionamento de água que pode ocorrer em cavidades do recobrimento da barra com o criogel.

Já a fase com poli (álcool vinílico) e zeína, por ser a que apresenta maior eficiência de extração, foi avaliada em cinco ciclos de extração/dessorção (FIGURA 31).

FIGURA 31: GRÁFICO DA MÉDIA DA ÁREA DE PICO (N=3) DOS ANALITOS (5,0 mg L⁻¹) APÓS CINCO EXTRAÇÕES SBSE CONSECUTIVAS COM CRIOGEL P10Z



P10Z: PVOH 20% (m/v) e zeína 97:3 (m/m).
FONTE: A autora (2023)

Para esta composição não foi observada a tendência de aumento da resposta com a reutilização da barra. Entretanto, ainda assim foi verificada diferença significativa entre as cinco utilizações (ANOVA de fator duplo com 5% de significância: $F_{P10Z}=14,65$; $F_{crítico}=2,55$). As flutuações de diminuição da área de pico podem, possivelmente, ser atribuídas também ao aprisionamento de água em cavidades do criogel.

Em seções subsequentes serão apresentados e discutidos os resultados de grau de intumescimento dos criogéis em água ultrapura e outras matrizes (5.5.1 “Grau de intumescimento”), além da avaliação do efeito do intumescimento na eficiência de sorção (5.5.2 “Influência do intumescimento na eficiência de extração”).

5.4 EFEITO MATRIZ (EM)

Cada uma das quatro fases sortivas foi aplicada em diferentes matrizes aquosas a fim de verificar o efeito que a composição da matriz poderia ter no processo de sorção. Foram selecionadas matrizes biológicas e ambientais sendo que, para o primeiro caso, quatro fluidos simulados foram empregados: fórmula infantil (simulando leite materno), urina, saliva e plasma, enquanto os corpos

aquáticos selecionados foram águas de abastecimento e de lago. O valor de pH de cada matriz analisada é apresentado na TABELA 7.

TABELA 7 – DIFERENTES MATRIZES AVALIADAS E RESPECTIVOS VALORES DE pH MEDIDOS APÓS PREPARO

Matriz	Valor de pH
Água ultrapura	7,57
Água de abastecimento	7,48
Água de lago	7,74
Fórmula infantil	6,42
Plasma simulado	7,73
Saliva simulada	6,94
Urina simulada	6,49

FONTE: A autora (2023)

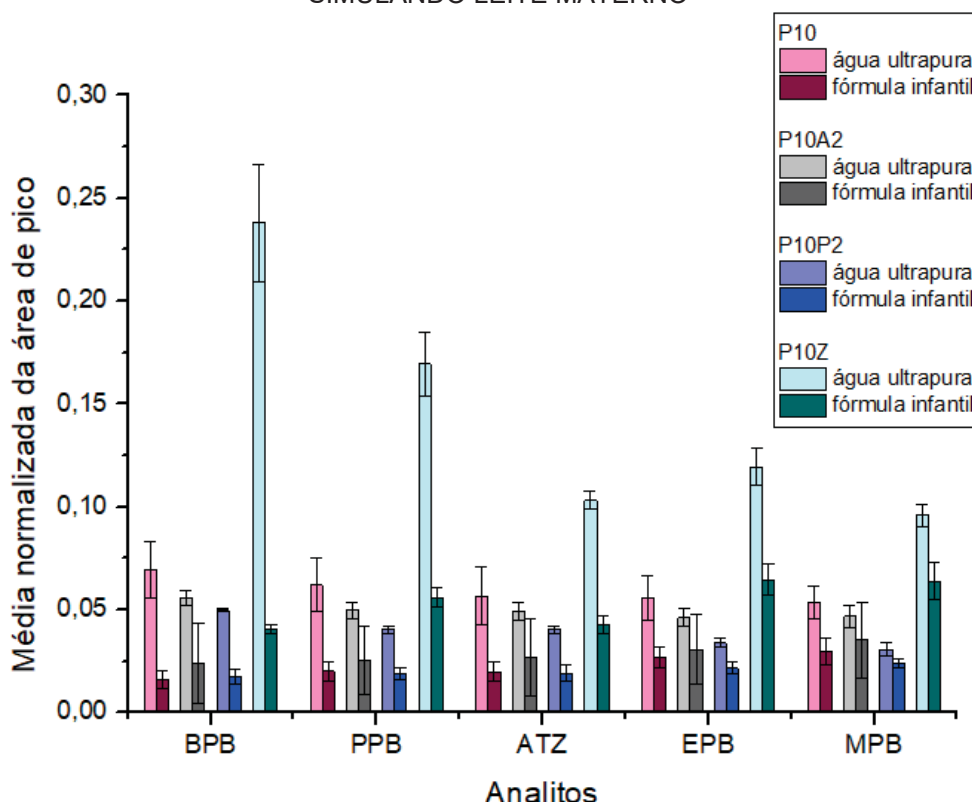
5.4.1 Fluidos biológicos simulados

5.4.1.1 Fórmula infantil (leite materno)

Nos ensaios de avaliação do efeito matriz foi aplicada a fórmula infantil disponibilizada em comércio local para simular o leite materno. Dentre os diversos componentes do produto destacam-se (em ordem decrescente de quantidade): lactose, óleos vegetais, proteína do soro do leite e leite desnatado.

Os experimentos foram realizados empregando-se todas as fases sortivas de criogel no dispositivo SBSE tanto em água ultrapura quanto na mistura da fórmula infantil, em triplicata. Foi possível constatar que, para quaisquer analitos e fases sortivas, houve um decréscimo da eficiência de sorção quando empregada a fórmula infantil. Isso foi confirmado com a ANOVA de fator duplo com significância de 5% realizada para cada composição ($F_{P10}=118,41$; $F_{P10A2}=19,44$; $F_{P10P2}=352,77$; $F_{P10Z}=459,38$; $F_{\text{crítico}}=4,35$) (FIGURA 32).

FIGURA 32: GRÁFICO DA MÉDIA DA ÁREA DE PICO (N=3) DOS ANALITOS (1,5 mg L⁻¹) APÓS EXTRAÇÃO POR SBSE COM CRIOGÉIS EM ÁGUA ULTRAPURA E EM FÓRMULA INFANTIL SIMULANDO LEITE MATERNO



P10: PVOH 20% (m/v); **P10A2:** PVOH 10% (m/v) e alginato 2,0% (m/v); **P10P2:** PVOH 10% (m/v) e pectina 2,0% (m/v); **P10Z:** PVOH 10% (m/v) e zeína sólida na proporção 97:3 (m/m).

FONTE: A autora (2023)

Os resultados do cálculo do efeito matriz (empregando Equação 1 da seção 4.4) também corroboram essa observação, uma vez que foram obtidos valores negativos. Verificou-se que o efeito desfavorável foi mais pronunciado para o analito BPB com valores na faixa de -57,08% à -82,89%, enquanto para o MPB foi menos acentuado, com valores entre -21,71% e -44,27% (TABELA 8).

TABELA 8 – EFEITO MATRIZ DA SBSE EM LEITE MATERNO SIMULADO COMPARANDO COM ÁGUA ULTRAPURA

Analito	Efeito Matriz (%)			
	P10	P10A2	P10P2	P10Z
MPB	-44,27	-24,95	-21,71	-33,34
EPB	-51,93	-33,56	-36,53	-46,04
PPB	-67,81	-48,68	-53,32	-66,92
ATZ	-65,07	-45,47	-52,17	-58,57
BPB	-77,02	-57,08	-64,53	-82,89

FONTE: A autora (2023)

Além disso, destaca-se que na matriz simulando leite materno não ocorre a tendência de maior eficiência de extração para os analitos menos polares quando

aplicado o criogel P10Z. Com ANOVA de fator único ($F_{P10Z}=10,5$ e $F_{crítico}=3,48$) e teste de Tukey, ambos com $\alpha=0,05$, foi possível confirmar que os compostos mais polares (EPB e MPB) apresentam médias normalizadas da área de pico maiores que as obtidas para o BPB.

Esse efeito expressivo da matriz pode ser atribuído à ação de diversos componentes da fórmula tais como lactose, óleos vegetais, proteínas e aminoácidos. A formação de emulsão na etapa de derivatização, por exemplo, dá indícios da permanência, de um ou mais interferentes, no dispositivo SBSE ou da interação destes com os analitos.

Porém, cabe destacar que apesar do efeito matriz expressivo, foi possível detectar todos os analitos, na concentração de $1,5 \text{ mg L}^{-1}$, empregando qualquer uma das fases baseadas em criogel.

5.4.1.2 Plasma

De maneira similar ao leite materno simulado, também houve decréscimo da eficiência de extração aplicando o plasma humano artificial. Foram obtidos valores negativos no cálculo do efeito matriz com, porém, a diferença de ser menos pronunciado para a atrazina TABELA 9.

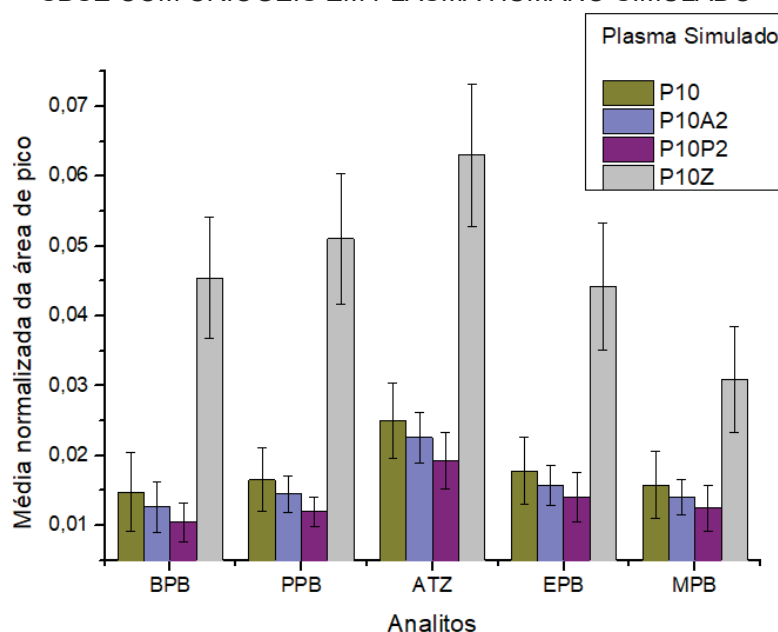
TABELA 9 – EFEITO MATRIZ DA SBSE EM PLASMA SIMULADO COMPARANDO COM ÁGUA ULTRAPURA

Efeito Matriz (%)				
Analito	P10	P10A2	P10P2	P10Z
MPB	-47,03	-51,44	-42,93	-51,27
EPB	-49,02	-47,54	-39,75	-45,63
PPB	-61,53	-55,73	-53,18	-55,61
ATZ	-18,39	-23,8	-19,1	-9,56
BPB	-70,99	-65,34	-64,14	-72,04

FONTE: A autora (2023)

A eficiência de extração em plasma simulado dos analitos empregando dispositivos SBSE com os quatro criogéis selecionados é apresentada na FIGURA 33.

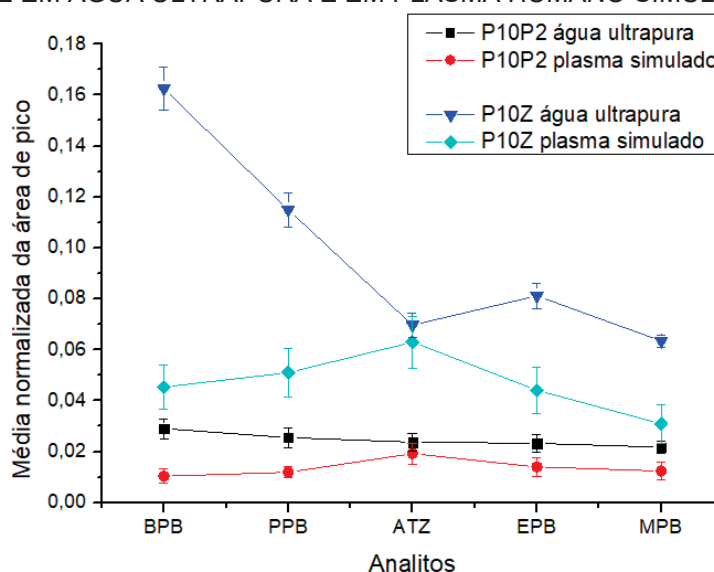
FIGURA 33: GRÁFICO DA MÉDIA DA ÁREA DE PICO (N=3) DOS ANALITOS (1,5 mg L⁻¹) APÓS SBSE COM CRIOGÉIS EM PLASMA HUMANO SIMULADO



P10: PVOH 20% (m/v); **P10A2:** PVOH 10% (m/v) e alginato 2,0% (m/v); **P10P2:** PVOH 10% (m/v) e pectina 2,0% (m/v); **P10Z:** PVOH 10% (m/v) e zeína sólida na proporção 97:3 (m/m).
 FONTE: A autora (2023)

Aplicando os testes F e t (com significância de 5%) foi verificado que as médias normalizadas obtidas para a ATZ são estatisticamente equivalentes para qualquer criogel aplicado ($t_{P10} = 1,79$; $t_{\text{crítico bi-caudal}} = 4,30$ e $t_{P10A2} = 1,97$; $t_{P10P2} = 1,5$; $t_{P10Z} = 1,03$; $t_{\text{crítico bi-caudal}} = 2,78$) em água ultrapura e em plasma. Para visualização desse comportamento são apresentados os resultados para as fases P10P2 e P10Z na FIGURA 34.

FIGURA 34: GRÁFICO DA MÉDIA DA ÁREA DE PICO (N=3) DOS ANALITOS (1,5 mg L⁻¹) APÓS SBSE EM ÁGUA ULTRAPURA E EM PLASMA HUMANO SIMULADO



P10P2: PVOH 10% (m/v) e pectina 2% (m/v); **P10Z:** PVOH 10% (m/v) e zeína sólida na proporção 97:3 (m/m). FONTE: A autora (2023)

Também, foi verificado novamente que não ocorre a tendência de maior eficiência de extração para os analitos menos polares quando aplicado o criogel P10Z. Com ANOVA de fator único considerando apenas os parabenos ($F_{P10Z}=2,86$ e $F_{crítico}=4,07$) constata-se que não há diferença significativa entre esses analitos.

Com base nesses resultados, tem-se indícios de que os componentes do plasma humano simulado não interferem na interação das fases sortivas com a ATZ e, em contrapartida, afetam a interação com os parabenos, fazendo com que não haja distinção entre as respostas de extração desses quatro conservantes.

Pelo fato do preparo da solução simulando plasma humano empregar albumina sérica bovina (BSA – *bovine serum albumin*), considerou-se que esse seria o principal interferente responsável pelo efeito matriz, além do aumento da força iônica em comparação com a água ultrapura.

A hipótese, nesse caso, é que essa proteína interage com os polímeros constituintes dos criogéis, impedindo a interação desses com os analitos. No trabalho de Mahdavinia et al., (2016), por exemplo, é relatada a adsorção de BSA com o emprego de criogel magnético de PVOH e alginato de sódio, demonstrando que é plausível essa suposição. Entretanto, os autores relatam a influência do pH e força iônica na adsorção uma vez que a interação seria, majoritariamente, eletrostática e uma maior capacidade foi observada em pH igual a 4,5.

Assim, considerando o ponto isoelétrico (pI) da BSA como 5,15 (CASTRO et al., 2009), nas condições de pH do plasma simulado (pH=7,73 conforme apresentado na TABELA 7) a BSA estaria negativamente carregada. Isso também seria observado para a zeína (pI entre 6,2 e 6,8) e os grupos ácidos do alginato de sódio e pectina (valores de pK_a entre 3,5 e 4,5). Nesse cenário, porém, ocorreria repulsão eletrostática, indicando que a interação majoritária entre BSA e os demais polímeros pode ter sido a hidrofóbica.

Isso porque, na possibilidade de que apenas sítios hidrofílicos estivessem disponíveis para interação nas redes poliméricas dos géis, se poderia justificar a sorção equivalente para os parabenos por meio do grupo fenol presente em todos os quatro. Para a ATZ, seria razoável considerar que a extração desse analito ocorre em todos os cenários, predominantemente, de forma hidrofílica e por isso não houve efeito matriz apreciável.

5.4.1.3 Urina

A eficiência de sorção de todas as quatro fases sortivas estudadas também foi avaliada em urina simulada. Com o cálculo do efeito matriz foi verificado que houve efeito, tanto negativo quanto positivo, para os géis avaliados (TABELA 10).

TABELA 10 – EFEITO MATRIZ DA SBSE EM URINA SIMULADA COMPARANDO COM ÁGUA ULTRAPURA

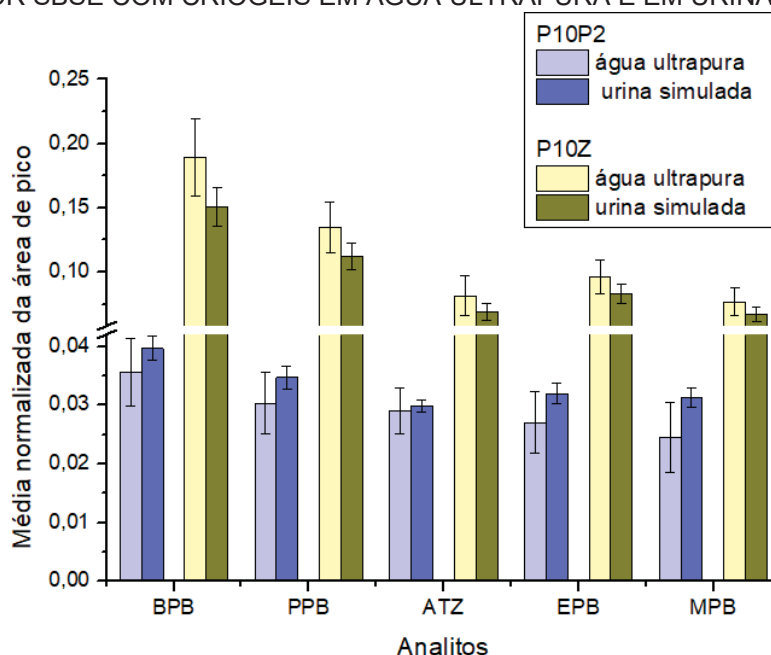
Efeito Matriz (%)				
Analito	P10	P10A2	P10P2	P10Z
MPB	-1,8	-9,34	27,5	-12,9
EPB	-3,57	-10,5	18,3	-13,5
PPB	-4,15	-8,22	14,7	-16,8
ATZ	-0,777	-9,63	2,7	-15,1
BPB	-3,66	-10,7	11,5	-20,5

FONTE: A autora (2023)

O efeito negativo foi constatado para as fases P10, P10A2 e P10Z, enquanto o criogel P10P2 apresentou um acréscimo da média normalizada da área de pico quando em urina (de 2,7% para ATZ à 27,52% para o MPB).

Há o destaque do comportamento antagônico observado para as fases P10P2 ($F_{P10P2}=8,64$; $F_{crítico}=4,35$) e P10Z ($F_{P10Z}=10,4$; $F_{crítico}=4,35$), conforme apresentado na FIGURA 35.

FIGURA 35: GRÁFICO DA MÉDIA DA ÁREA DE PICO (N=3) DOS ANALITOS (1,5 mg L⁻¹) APÓS EXTRAÇÃO POR SBSE COM CRIOGÉIS EM ÁGUA ULTRAPURA E EM URINA SIMULADA



P10P2: PVOH 10% (m/v) e pectina 2,0% (m/v); **P10Z:** PVOH 10% (m/v) e zeína sólida na proporção 97:3 (m/m). FONTE: A autora (2023)

Para as fases P10 e P10A2 foi verificado que não houve diferença da extração em ambas as matrizes (ANOVA fator duplo 95%, $F_{P10}=0,0789$; $F_{P10A2}=2,96$; $F_{crítico}=4,35$).

Considerando a constituição desse fluido simulado, é razoável supor que há um aumento da força iônica em comparação com a água ultrapura. Esse aumento pode, possivelmente, fornecer contra-íons (por exemplo os íons sódio, potássio, cálcio, magnésio e amônio dos cloretos, sulfatos e fosfatos da solução simulada) que reduziriam a repulsão eletrostática entre os grupos carboxilato das cadeias de pectina. Assim, o espaço intersticial do criogel P10P2 poderia ser reduzido, evitando a difusão dos analitos e acarretando um acréscimo da eficiência de sorção.

Já para a fase sortiva contendo zeína, o interferente provavelmente responsável pelo decréscimo na resposta de extração, seria a ureia. Isso porque essa substância (CH_4N_2O) é considerada como um forte aceptor para ligação de hidrogênio devido a presença de uma carboxila e dois grupos amina na estrutura (IE, 2008; LIU et al., 2023). Por exemplo, no trabalho de Y. Yuan et al., (2020) foi relatada a influência da adição de ureia na interação de nanopartículas de zeína com o polissacarídeo dextran sulfato.

Dessa forma, o decréscimo significativo, mas pouco pronunciado, na eficiência de extração dessa fase pode, talvez, ser justificado pelo fato da interação predominante para a sorção dos analitos ser a hidrofóbica. Assim, a presença de ureia pode ter influenciado em sítios que possibilitam interações de hidrogênio com a zeína, reduzindo a sorção dos analitos, mas ainda haveria abundância de sítios hidrofóbicos.

5.4.1.4 Saliva

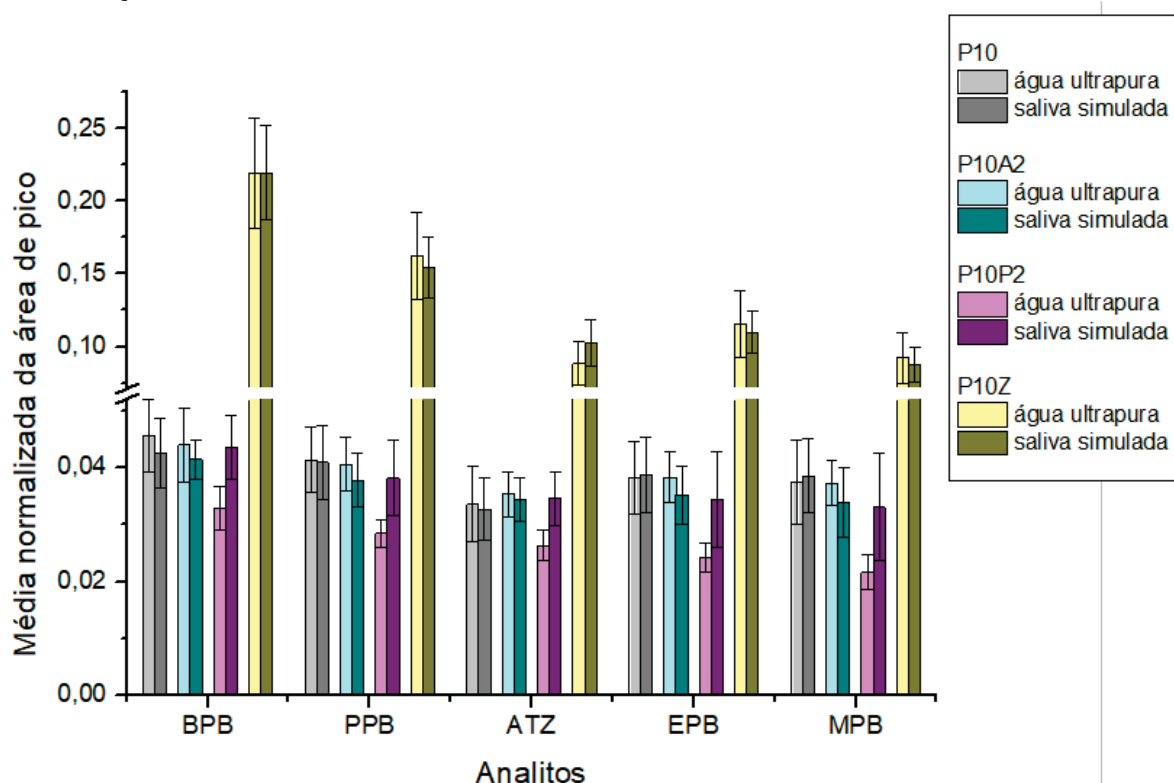
Por fim, a última matriz biológica avaliada foi a saliva simulada. De maneira similar à urina, foi obtido efeito matriz positivo e negativo para as fases sortivas empregadas. A interferência mais pronunciada foi observada para o criogel P10P2 com valores entre 31,2 e 52,7% (TABELA 11).

TABELA 11 – EFEITO MATRIZ DA SBSE EM SALIVA SIMULADA COMPARANDO COM ÁGUA ULTRAPURA

Efeito Matriz (%)				
Analito	P10	P10A2	P10P2	P10Z
MPB	2,89	-8,88	52,7	-5,15
EPB	1,33	-8,20	41,9	-4,96
PPB	-1,15	-6,85	34,5	-4,84
ATZ	-2,46	-2,87	31,2	15,9
BPB	-6,55	-5,79	32,8	0,181

FONTE: A autora (2023)

Porém, com os resultados de eficiência de extração foi observado que não há diferença entre as matrizes água ultrapura e saliva simulada para a maioria dos analitos (ANOVA fator duplo 5%, $F_{P10}=0,0533$; $F_{P10A2}=2,16$; $F_{P10Z}=0,08164$; $F_{\text{crítico}}=4,35$). A exceção foi, mais uma vez, a fase de PVOH e pectina ($F_{P10P2}=25,29$; $F_{\text{crítico}}=4,35$) com os resultados apresentados na FIGURA 36.

FIGURA 36: GRÁFICO DA MÉDIA DA ÁREA DE PICO (N=3) DOS ANALITOS (1,5 mg L⁻¹) APÓS EXTRAÇÃO POR SBSE COM CRIOGÉIS EM ÁGUA ULTRAPURA E EM SALIVA SIMULADA

P10: PVOH 20% (m/v); **P10A2:** PVOH 10% (m/v) e alginato 2,0% (m/v); **P10P2:** PVOH 10% (m/v) e pectina 2,0% (m/v); **P10Z:** PVOH 10% (m/v) e zeína sólida na proporção 97:3 (m/m).

FONTE: A autora (2023)

Seria plausível considerar novamente que a força iônica do fluido simulado é a responsável pela mudança no comportamento de extração dessa fase. A

diferença, porém, estaria baseada no fato da ureia, por exemplo, não ser um constituinte da matriz. Com isso, além da redução da repulsão eletrostática entre os grupos carboxilato da cadeia polimérica da pectina, poderia ocorrer uma maior disponibilidade de sítios para interações de ligação de hidrogênio.

5.4.2 Corpos aquáticos

5.4.2.1 Água de abastecimento

Com relação às amostras ambientais, foi analisada uma amostra de água de abastecimento na região de Curitiba-PR. Foram encontradas dificuldades experimentais na análise GC/MS que resultaram na necessidade da reinjeção dos extratos derivatizados (secagem e ressuspensão em hexano).

Com o cálculo do efeito matriz foi verificado que a composição da matriz apresentou interferência na sorção (TABELA 12).

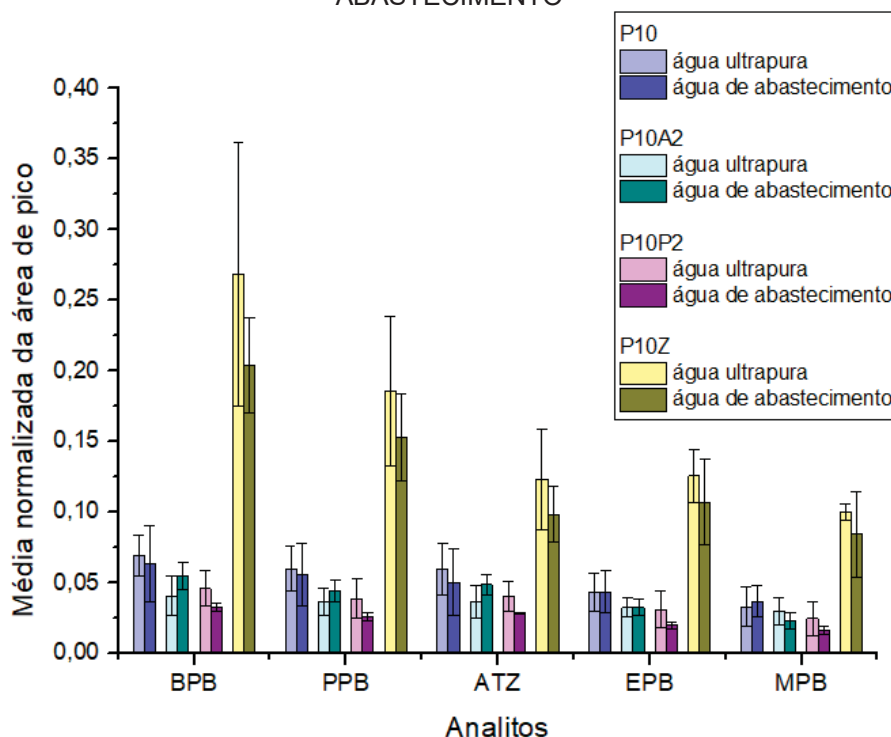
TABELA 12 – EFEITO MATRIZ DA SBSE EM ÁGUA DE ABASTECIMENTO COMPARANDO COM ÁGUA ULTRAPURA

Efeito Matriz (%)				
Analito	P10	P10A2	P10P2	P10Z
MPB	11,5	-22,3	-34,1	-15,7
EPB	1,09	-0,346	-35,5	-14,7
PPB	-7,30	20,77	-32,6	-17,6
ATZ	-16,0	32,92	-28,9	-20,1
BPB	-8,79	34,22	-29,0	-23,9

FONTE: A autora (2023)

Entretanto, com ANOVA de fator duplo ($\alpha=0,05$) constatou-se que não houve diferença significativa entre as médias normalizadas da área de pico (FIGURA 37) quando aplicadas as fases sortivas P10, P10A2 e P10Z ($F_{P10}=0,228$; $F_{P10A2}=2,65$; $F_{P10Z}=4,18$; $F_{\text{crítico}}=4,35$). Novamente, apenas o criogel contendo pectina ($F_{P10P2}=12,1$; $F_{\text{crítico}}=4,35$) apresentou resultados estatisticamente distintos.

FIGURA 37: GRÁFICO DA MÉDIA DA ÁREA DE PICO (N=3) DOS ANALITOS (1,5 mg L⁻¹) APÓS EXTRAÇÃO POR SBSE COM CRIOGÉIS EM ÁGUA ULTRAPURA E ÁGUA DE ABASTECIMENTO



P10: PVOH 20% (m/v); **P10A2:** PVOH 10% (m/v) e alginato 2,0% (m/v); **P10P2:** PVOH 10% (m/v) e pectina 2,0% (m/v); **P10Z:** PVOH 10% (m/v) e zeína sólida na proporção 97:3 (m/m).

FONTE: A autora (2023)

Segundo relatório obtido no endereço eletrônico da Sanepar (Companhia de Abastecimento do Paraná) para análises realizadas nos meses de fevereiro e abril de 2023 há a concentração de 1,0 mg L⁻¹ de cloro residual, 0,8 mg L⁻¹ de fluoretos e 0,1 mg L⁻¹ de ferro e alumínio (SANEPAR, 2023). Não foi possível, até o momento, relacionar a presença desses constituintes com o efeito matriz observado para o criogel de pectina.

Uma possível justificativa seria a presença de contaminantes na amostra que apresentassem uma afinidade exclusiva com a pectina. Porém, até o momento, não há resultados que corrobore essa suposição.

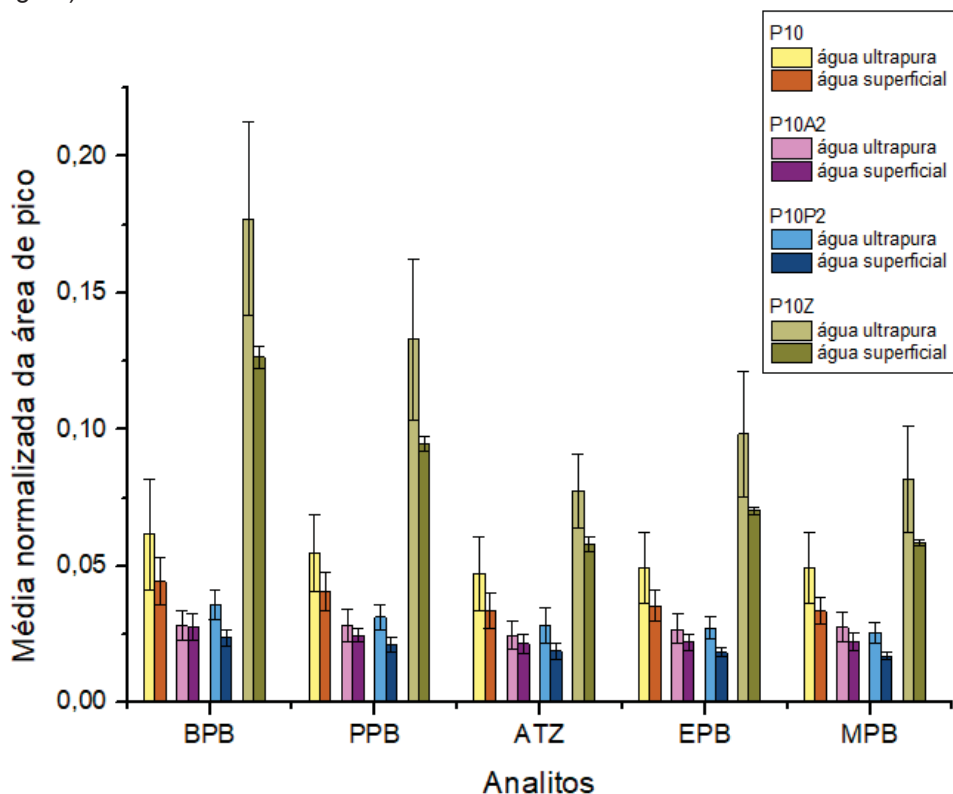
5.4.2.2 Água superficial

Por fim, a última matriz analisada foi a amostra de água de lago obtida no Parque das Águas em Pinhais, Região Metropolitana de Curitiba - PR.

Na avaliação da eficiência de extração nessa matriz e em água ultrapura, devido a erros experimentais, foi possível a obtenção de triplicata apenas para as fases P10 e P10A2. Entretanto, os criogéis P10P2 e P10Z (com n=2 para água

ultrapura) também são apresentados na FIGURA 38 de forma a permitir a visualização da tendência de resposta.

FIGURA 38: GRÁFICO DA MÉDIA NORMALIZADA DA ÁREA DE PICO (N=3) DOS ANALITOS (1,5 mg L⁻¹) APÓS SBSE COM CRIOGÉIS EM ÁGUA ULTRAPURA E ÁGUA SUPERFICIAL



P10: PVOH 20% (m/v); **P10A2:** PVOH 10% (m/v) e alginato 2,0% (m/v); **P10P2:** PVOH 10% (m/v) e pectina 2,0% (m/v); **P10Z:** PVOH 10% (m/v) e zeína sólida na proporção 97:3 (m/m).

FONTE: A autora (2023)

Com ANOVA de fator duplo ($\alpha=0,05$) foi possível verificar que a água superficial reduziu a eficiência de extração de forma estatisticamente significativa ($F_{P10}=12,4$; $F_{P10A2}=4,39$; $F_{crítico}=4,35$). Para as fases com resultados em duplicata, é possível observar no gráfico da FIGURA 38 que há também uma tendência de decréscimo da resposta.

Esse decréscimo da resposta foi mais destacado para a fase sortiva P10, uma vez que, com o cálculo do efeito matriz, forneceu valores negativos entre -25,8 e -31,7% enquanto para o gel contendo alginato a faixa foi de -2,18 à -19,7% (TABELA 13).

TABELA 13 – EFEITO MATRIZ DA SBSE EM ÁGUA SUPERFICIAL COMPARANDO COM ÁGUA ULTRAPURA

Efeito Matriz (%)		
Analito	P10	P10A2
MPB	-31,7	-19,7
EPB	-28,2	-17,5
PPB	-25,8	-13,0
ATZ	-28,7	-12,2
BPB	-28,0	-2,18

FONTE: A autora (2023)

Uma possível explicação para a diminuição da eficiência de extração seria baseada na presença de matéria orgânica dissolvida (DOM – *dissolved organic matter*) presente substancialmente em águas naturais, como a de lago (ZHANG et al., 2023). Nesse caso, ocorreria a interação entre DOM e as cadeias poliméricas todas as fases sortivas avaliadas, impedindo alguns sítios de sorção.

Verifica-se que, apesar do efeito matriz para essa amostra (e para as discutidas anteriormente) não houve diminuição expressiva que impossibilitasse a determinação de qualquer um dos analitos. Assim, tem-se a excepcional potencialidade de aplicação das fases sortivas baseadas em criogéis em outros tipos de amostras complexas.

Também cabe destacar que, por não se tratar de desenvolvimento de um método analítico, não foi realizada a otimização dos parâmetros SBSE. Assim, no caso de obtenção de condições ótimas para os diferentes parâmetros, seria obtido um incremento na eficiência de extração e isso reduziria, provavelmente, o efeito matriz.

5.5 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA

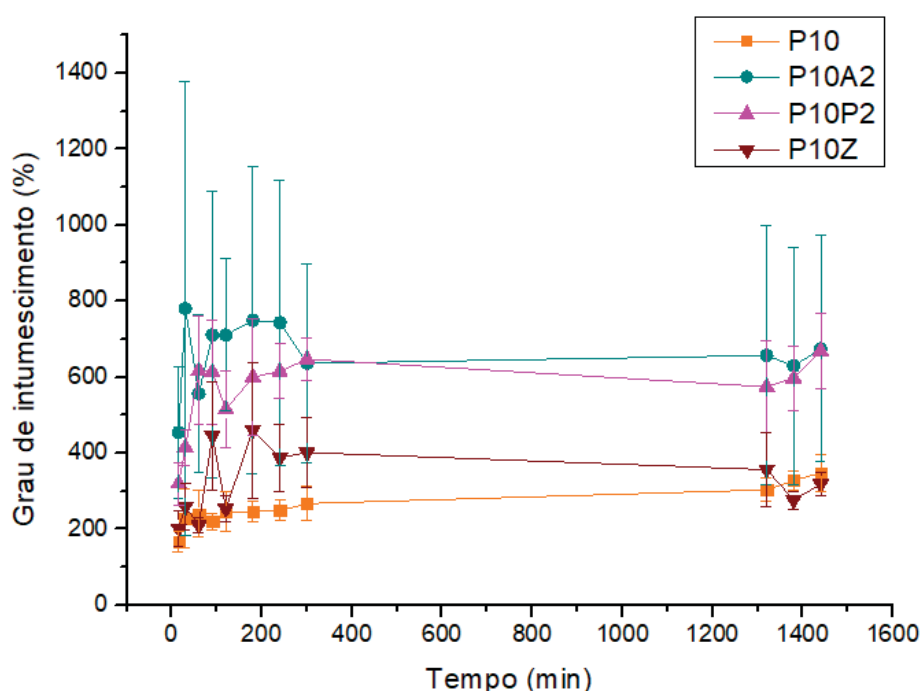
5.5.1 Grau de intumescimento

A caracterização físico-química das fases de criogel foi realizada com o objetivo de obter dados que permitissem confirmar ou descartar as hipóteses levantadas com os resultados anteriores e, até mesmo, obter novas informações. O primeiro ensaio realizado foi a avaliação do grau de intumescimento (inchaço) de forma a verificar a capacidade de absorção de água ultrapura e outras matrizes aquosas pela rede polimérica de cada fase. Além disso, objetivou-se verificar a influência dessa absorção de solventes no processo de extração, permitindo avaliar

se o afastamento das cadeias atua favorecendo, ou não, a interação dos analitos com os sítios de sorção.

Inicialmente as medições foram realizadas com o dispositivo completo da barra de vidro recoberta com a fase sorvente. O ensaio foi executado em triplicata (três barras recobertas com a mesma fase sortiva) e foram obtidos valores médios de até 348,52% para P10 em 1440 minutos, 780,41% para P10A2 em 30 minutos, 668,62% para P10P2 em 1440 minutos e 445,77% para P10Z em 90 minutos (FIGURA 39).

FIGURA 39: GRÁFICO DO GRAU DE INTUMESCIMENTO (%), EM ÁGUA ULTRAPURA, ATÉ 1440 MINUTOS DE DISPOSITIVOS SBSE COM CRIOGÉIS



P10: PVOH 20% (m/v); **P10A2:** PVOH 10% (m/v) e alginato 2,0% (m/v); **P10P2:** PVOH 10% (m/v) e pectina 2,0% (m/v); **P10Z:** PVOH 10% (m/v) e zeína sólida na proporção 97:3 (m/m).

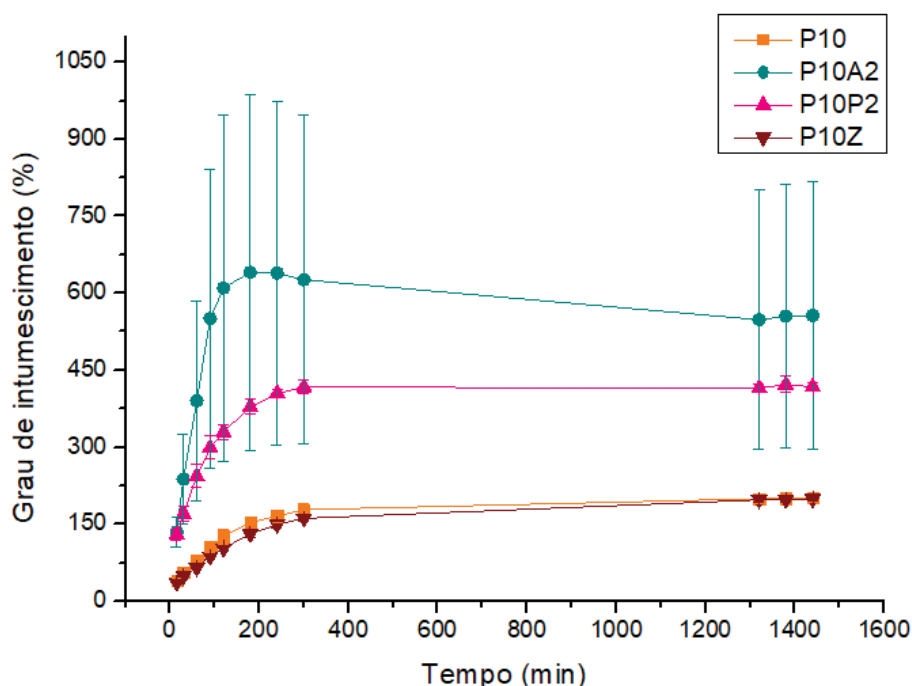
FONTE: A autora (2023)

Porém, foram obtidos valores elevados de desvios padrão relativos (P10 na faixa de 7,65 a 33,92%; P10A2 de 28,20 a 76,64%; P10P2 de 8,74 a 25,58% e P10Z de 8,37 a 38,85%). Possíveis justificativas seriam a presença de lacunas no recobrimento da barra de vidro pelo criogel, fazendo com que o vidro ficasse molhado e/ou o aprisionamento de um volume de água significativo que não foi eliminado na etapa de secagem da barra antes da pesagem. Ademais, percebeu-se também que o invólucro de vidro da barra não é totalmente selado, uma vez que se observou vapor d'água perto da haste metálica e, com o passar do tempo, ocorreu a oxidação do metal.

Para contornar as dificuldades, fez-se o experimento aplicando apenas o criogel sem a barra de vidro. Para isso realizou-se o mesmo procedimento de síntese de barras recobertas com criogel, com a diferença, porém, de não mergulhar a barra de vidro na mistura polimérica. Assim, todo o molde foi preenchido com a dispersão polimérica.

Os resultados do grau absorção de água ultrapura pelos criogéis (sem as barras de vidro) são apresentados na FIGURA 40.

FIGURA 40: GRÁFICO DO GRAU DE INTUMESCIMENTO (%) DOS CRIOGÉIS EM ÁGUA ULTRAPURA ATÉ 1440 MINUTOS



P10: PVOH 20% (m/v); **P10A2:** PVOH 10% (m/v) e alginato 2,0% (m/v); **P10P2:** PVOH 10% (m/v) e pectina 2,0% (m/v); **P10Z:** PVOH 10% (m/v) e zeína sólida na proporção 97:3 (m/m).

FONTE: A autora (2023)

Constatou-se que a fase P10A2 apresentou a maior média de intumescimento (640,67% em 180 minutos) com, entretanto, também os valores mais elevados de desvio padrão relativo (21,94 a 55,22%). A fase contendo pectina atingiu o valor máximo da média em 1380 minutos com 422,02%, enquanto as fases P10 e P10Z apresentaram os valores máximos de 202,29 e 198,79%, respectivamente, em 1440 minutos.

Comparando os resultados obtidos com os relatados no trabalho de Sampaio et al., (2019) verifica-se que as condições de congelamento/descongelamento podem acarretar mudanças na capacidade de absorção de água da rede polimérica. Isso porque, no citado estudo realizado anteriormente no grupo de pesquisa, foram avaliados discos de hidrogel de PVOH que não atingiram

porcentagem de intumescimento acima de 100% e a composição polimérica P10P2 apresentou valores máximos próximos de 200%. Em contrapartida, conforme visualizado na FIGURA 40, essas mesmas fases poliméricas, ao passarem pelos ciclos para obtenção de criogéis, apresentaram valores no mínimo duas vezes maiores para absorção de água.

É possível relacionar o teor de intumescimento em água com os resultados de eficiência de sorção de cada fase (apresentado na seção “5.3.1 - Eficiência de extração de diferentes composições poliméricas”). Observa-se, por exemplo, que os criogéis que apresentaram maior capacidade de extração dos analitos (P10Z e P10) são os que agora exibem menor grau de intumescimento. Isso vai ao encontro aos resultados obtidos em trabalhos anteriores do grupo CroMe (CASTILHOS et al., 2017; SAMPAIO et al., 2019). Neste caso, considera-se que com uma maior absorção de água tem-se uma maior distância entre as cadeias poliméricas, favorecendo uma maior difusão dos analitos no solvente e menor interação com a fase polimérica.

Destaca-se, porém, o fato da fase P10Z apresentar uma eficiência de extração significativamente maior que a fase P10, mas com valores de grau de intumescimento bastante próximos. Isso dá indícios de que a zeína não contribui no processo de absorção de água pelo criogel.

Já a justificativa da maior capacidade de absorção de água das fases com alginato de sódio e pectina pode ser atribuída à presença de grupos carboxila nas cadeias desses polímeros. Considerando os valores de pKa das unidades de ácido manurônico, gulurônico e galacturônico (3,8; 3,65 e entre 3,5 e 4,5, respectivamente), nas condições de pH da água ultrapura (entre 6 e 7), o perfil das unidades ácidas será de dissociação na forma de carboxilatos. Assim, há repulsão eletromagnética entre as cadeias devido a presença de unidades negativamente carregadas, acarretando o afastamento dessas e, conseqüentemente, favorecendo a absorção além da formação de ligações de hidrogênio com moléculas de água.

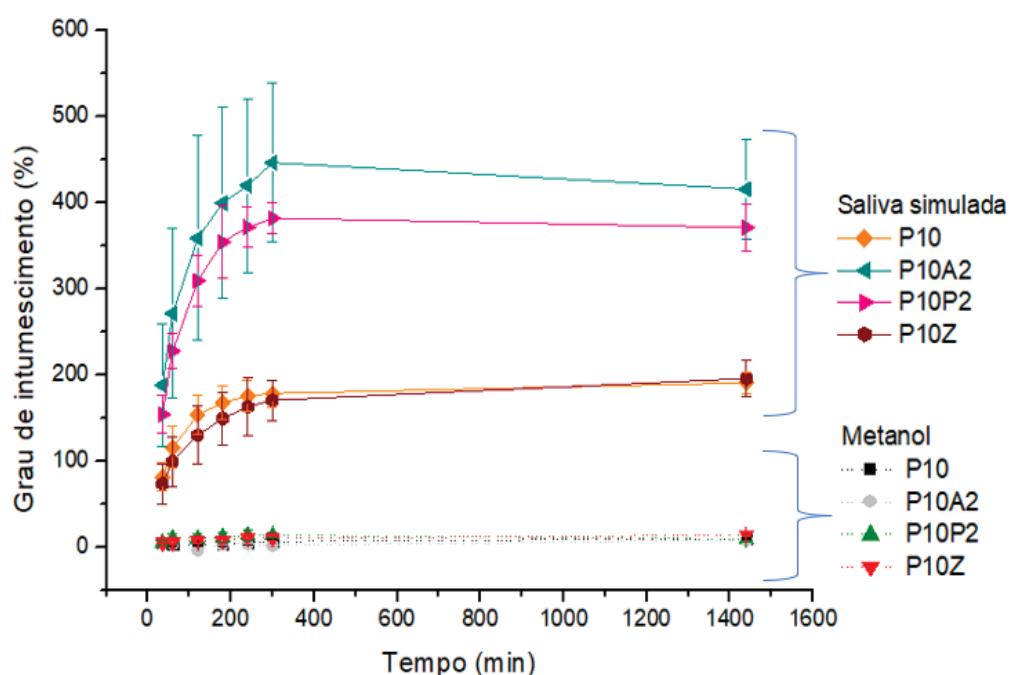
Entretanto, a associação entre o grau de intumescimento e eficiência de sorção não é obedecida quando comparadas essas fases contendo alginato e pectina. Isso porque no experimento discutido na seção “5.3.4 Efeito da concentração de alginato e pectina” tem-se que a fase P10A2 se sobressai significativamente da fase P10P2 quanto à eficiência de sorção. Assim, seria esperado que o criogel contendo alginato de sódio apresentasse menor grau de

intumescimento em comparação com o gel contendo pectina. Porém, conforme já discutido, tem-se que os coeficientes de desvio padrão relativo do P10A2 são mais elevados (entre 21,94 e 55,22%) do que os calculados para a fase P10P2 (entre 1,67 e 9,24%) e, por isso, pode interferir na observação deste comportamento associado à capacidade de extração de cada fase.

Por fim, o comportamento dos géis com relação ao grau de intumescimento sugere que, de forma geral, todas as fases atingiram equilíbrio na faixa de tempo avaliada. Com a ANOVA de fator único ($\alpha=0,05$) foi constatado que há diferença significativa entre os valores de intumescimento para as fases P10, P10P2 e P10Z ($F_{P10}= 107,8$; $F_{P10P2}= 155,6$; $F_{P10Z}= 505,7$; $F_{crítico}=2,297$). Com o teste de Tukey verificou-se que, para as fases com menor capacidade de absorção de água (P10 e P10Z), a partir de 300 minutos e 1320 minutos, respectivamente, não há diferença significativa entre os valores de intumescimento, dando indícios de que foi atingido um equilíbrio. Já com relação à fase P10P2, considerou-se que o equilíbrio ocorreu a partir de 180 minutos. O criogel P10A2 não apresentou diferença significativa entre os resultados obtidos ($F_{P10A2}=1,240$; $F_{crítico}=2,297$).

Também foi realizada a avaliação do grau de intumescimento dos criogéis em outros dois solventes. Uma das escolhas foi o metanol, por ser o solvente no qual é realizada a etapa de dessorção. A outra foi a matriz simulada saliva, para que fosse possível obter informações do efeito da composição da matriz neste processo, além do fato de ter sido uma das matrizes que apresentou comportamento de sorção distinto para os analitos. Os resultados são apresentados na FIGURA 41.

FIGURA 41: GRÁFICO DO GRAU DE INTUMESCIMENTO (%) DOS CRIOGÉIS EM SALIVA SIMULADA E EM METANOL ATÉ 1600 MINUTOS DOS CRIOGÉIS



P10: PVOH 20% (m/v); **P10A2:** PVOH 10% (m/v) e alginato 2% (m/v); **P10P2:** PVOH 10% (m/v) e pectina 2% (m/v); **P10Z:** PVOH 10% (m/v) e zeína sólida na proporção 97:3 (m/m).

FONTE: A autora (2023)

A respeito do metanol, verificou-se que os teores de intumescimento não ultrapassaram 13,84% (fase P10Z em 1440 minutos). Considerando que a maioria dos polímeros empregados são hidrofílicos, este comportamento de baixa absorção de metanol pode ser um indício de que este atua como o denominado “mau solvente”. Nesse caso, ocorreria a preferência de interação das cadeias poliméricas entre si e não com o metanol, resultando uma baixa absorção e maior rigidez do material.

É possível relacionar este resultado com a atuação eficiente do metanol para dessorção (discutido no item 5.3.7 “Dessorções consecutivas”). Nesse caso, a hipótese seria de que a miscibilidade em água do metanol permitiria que este solvente percolasse a rede polimérica quando está intumescida após a absorção da matriz aquosa durante a extração. Assim, o metanol pode formar interações com os analitos, mas durante o período da dessorção ocorreria a expulsão desse solvente da rede tridimensional conforme a interação das cadeias poliméricas entre si é favorecida.

Já para a saliva, observou-se um comportamento bastante semelhante com o obtido em água ultrapura com, entretanto, maior intumescimento em saliva para os géis P10 e P10Z, enquanto os outros dois géis apresentaram comportamento inverso. A diferença de intumescimento nas matrizes água ultrapura e saliva foi um

incremento de até 36,30 e 33,64% para as fases P10 e P10Z, respectivamente. Já para a fase P10A2 o decréscimo observado foi de até 251,34%, enquanto para a fase P10P2 houve uma diminuição de até 46,54%.

A ANOVA de fator duplo ($\alpha = 0,05$) confirmou que há diferença significativa para o grau de intumescimento nas duas matrizes ($F_{P10}=9,30$; $F_{P10A2}=6,91$; $F_{P10P2}=16,5$; $F_{P10Z}=8,09$; $F_{\text{crítico}}=4,2$). Uma hipótese para o aumento de intumescimento em saliva para as fases P10 e P10Z seria baseada na força iônica da solução do fluido simulado. Isso porque no preparo da solução foram empregados diferentes sais como, por exemplo, os cloretos de sódio, potássio, cálcio e amônio. Há, dessa forma, um gradiente iônico gerando uma pressão osmótica entre o ambiente externo (saliva) e do gel reticulado em água. Isso faz com que ocorra uma maior difusão de íons para o hidrogel de forma a equilibrar a pressão osmótica, causando o inchaço (BAJPAI et al., 2008; QUINTERO et al., 2010).

Já no caso das fases contendo alginato e pectina, o decréscimo do intumescimento em saliva também pode ser justificado pela força iônica da matriz biológica simulada. Conforme discutido nos ensaios de Efeito Matriz para as amostra de saliva e urina, os cátions presentes na saliva podem atuar como contra-íons reduzindo a repulsão eletrostática entre as cadeias e, até mesmo, permitindo uma reticulação. Assim, o espaço intersticial é reduzido, causando o decréscimo do inchaço do gel (BAJPAI et al., 2008; MARTINS; VIEIRA COSTA; PRENTICE, 2018).

Como resultado também há uma diminuição dos desvios padrões relativos para a fase contendo alginato de sódio (RSD entre 14,09 e 38,12% em saliva e entre 21,94 e 55,22% em água ultrapura), representando um decréscimo de até 17,10%.

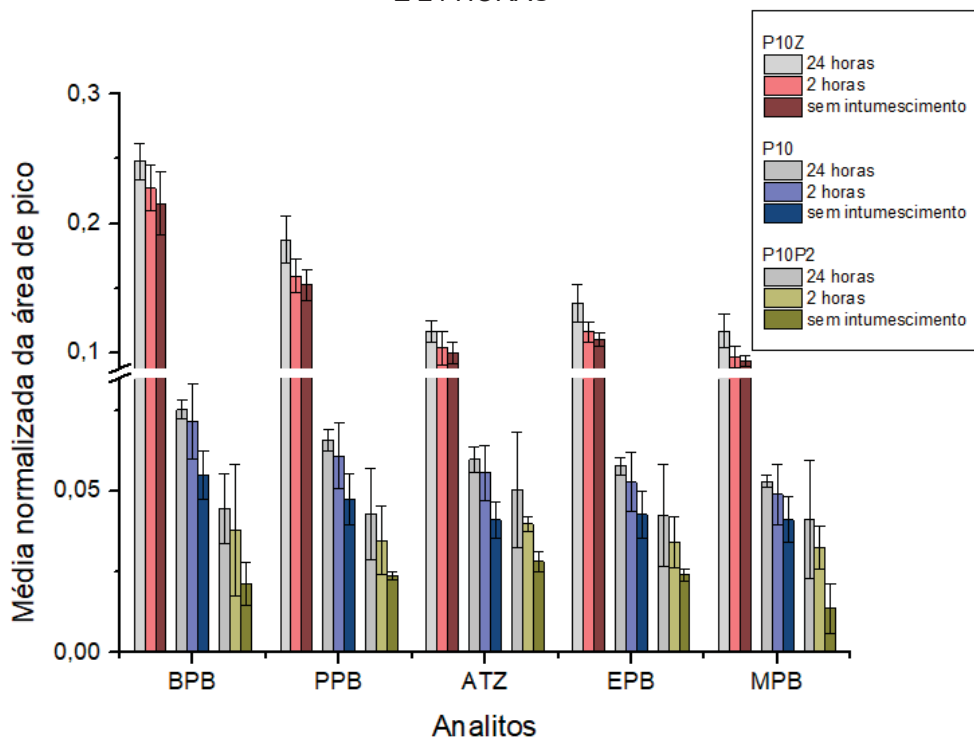
5.5.2 Influência do intumescimento na eficiência de extração

A partir dos resultados do grau intumescimento em água ultrapura das fases extratoras baseadas em criogéis foi possível avaliar o efeito do tempo de intumescimento na eficiência de sorção.

Serão apresentados e discutidos os resultados para os géis P10, P10P2 e P10Z uma vez que, de acordo com as porcentagens de absorção de água da seção “5.5.1 Grau de intumescimento” não houve diferença significativa para os

resultados da fase P10A2 no intervalo de tempo avaliado. Os resultados são apresentados na FIGURA 42.

FIGURA 42: GRÁFICO DA MÉDIA DA ÁREA DE PICO (N=3) DOS ANALITOS (5 mg L⁻¹) APÓS EXTRAÇÃO POR SBSE COM CRIOGÉIS SEM INTUMESCIMENTO E INTUMESCIDOS APÓS 2 E 24 HORAS



P10: PVOH 20% (m/v); **P10A2:** PVOH 10% (m/v) e alginato 2% (m/v); **P10P2:** PVOH 10% (m/v) e pectina 2% (m/v); **P10Z:** PVOH 10% (m/v) e zeína sólida na proporção 97:3 (m/m).

FONTE: A autora (2023)

Foi realizada a comparação da eficiência de sorção de todas as três fases sem intumescimento prévio ou com a etapa de absorção de água mergulhando as barras recobertas com criogel em água ultrapura pelo período 2 ou 24 horas. Esses intervalos de tempo foram selecionados pelo fato de que em 2 horas nenhuma das fases teria atingido equilíbrio de absorção de água (já que P10P2 atinge após 4 horas e, no caso das fases P10 e P10Z, após 5 horas e 22 horas, respectivamente), porém já atingindo grau de intumescimento que excede 100%, enquanto em 24 horas todas estariam em seus respectivos platôs de intumescimento.

Com a ANOVA de fator duplo ($\alpha=0,05$) foi constatado que há diferença significativa entre as três condições para todas as fases ($F_{P10}=21,9$; $F_{P10Z}=17,4$; $F_{P10P2}=14,1$; $F_{crítico}=3,31$). E quando comparadas as condições de intumescimento de 2 e 24 horas verificou-se uma distinção entre as respostas para a fase contendo zeína, mas não para a fase de PVOH isolado ou combinado com pectina ($F_{P10Z}=18,8$; $F_{P10}=2,64$; $F_{P10P2}=2,84$; $F_{crítico}=4,35$).

Desta forma, é possível inferir que, para a fase de criogel contendo zeína, a melhor eficiência de sorção foi obtida após o processo de absorção de água ultrapura pelo período de 24 horas por ser próximo ao tempo necessário para atingir o equilíbrio de intumescimento dessa fase (22 horas).

Já para a blenda polimérica empregando pectina e para a fase apenas com PVOH, o intumescimento colabora com o processo de sorção, mas não houve diferença entre 2 e 24 horas. Isso pode ser justificado pelo fato do período de 2 horas é suficientemente próximo ao tempo necessário para atingir o equilíbrio nessas fases (4 e 5 horas, respectivamente). Assim, tanto em 2 ou 24 horas pode-se considerar que já houve absorção de água suficiente para colaborar no processo de extração.

Esses resultados confrontam os obtidos e discutidos no item “4.5.1 Grau de intumescimento ” no qual foi verificado que uma maior capacidade de absorção de água acarretava menor eficiência de extração. Naquele caso, considerou-se que o inchaço da cadeia permite a difusão dos analitos na fase aquosa e dificulta a interação dos compostos com os grupos funcionais dos polímeros dos géis.

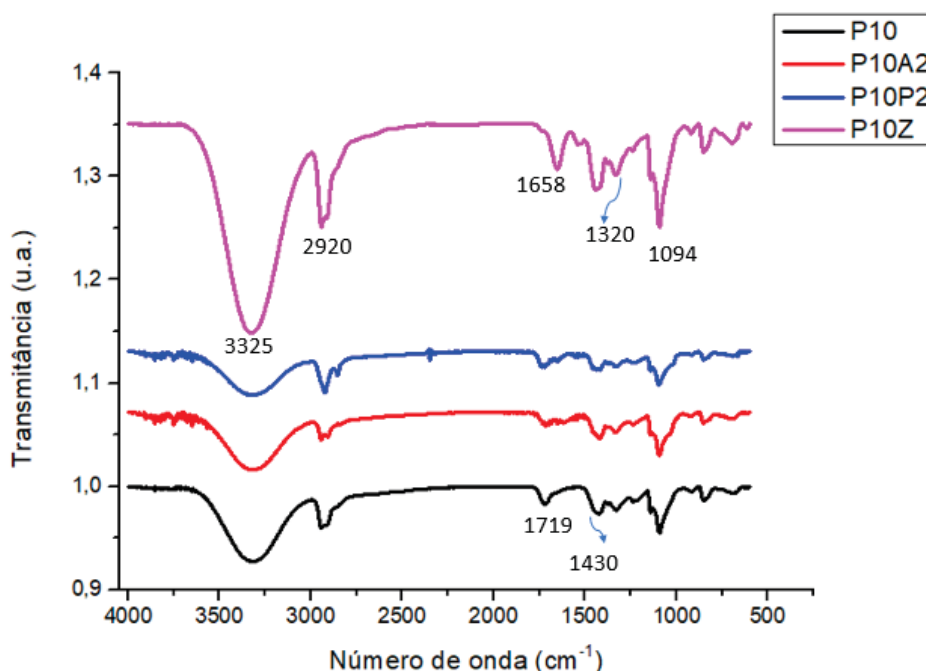
Entretanto, os resultados agora discutidos do efeito da absorção de água na sorção demonstram que com o intumescimento do dispositivo de SBSE há uma maior eficiência de extração. Nesse caso, possivelmente, a absorção de água permite a interação do solvente com os sítios hidrofílicos das cadeias poliméricas, enquanto os hidrofóbicos estarão disponíveis para sorção dos analitos. Isso corrobora com a hipótese de que a sorção ocorra preferencialmente por meio de interações hidrofóbicas.

Assim, o comportamento aparentemente contraditório é possivelmente justificado pelo fato da absorção de água pelo hidrogel colaborar para disponibilidade dos sítios hidrofóbicos, porém quando ocorre excessivamente o efeito pronunciado será o de difusão dos analitos e pouca interação com os grupos funcionais da cadeia polimérica.

5.5.3 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

Para a caracterização de grupos funcionais nos criogéis avaliados, foram obtidos espectros de infravermelho com transformada de Fourier no modo de reflectância total atenuada (ATR). Os espectros, destacando bandas de absorção, são apresentados na FIGURA 43.

FIGURA 43: ESPECTROS FTIR NO MODO ATR DOS CRIOGÉIS



P10: PVOH 20% (m/v); **P10A2:** PVOH 10% (m/v) e alginato 2,0% (m/v); **P10P2:** PVOH 10% (m/v) e pectina 2,0% (m/v); **P10Z:** PVOH 10% (m/v) e zeína sólida na proporção 97:3 (m/m).

FONTE: A autora (2023)

Todos os géis avaliados apresentaram uma banda larga na região de 3325 cm^{-1} referente ao estiramento OH sendo que, na fase P10Z, também pode ser atribuída ao estiramento N-H de amidas. Outras bandas observadas em 2920 e 1719 cm^{-1} representam, respectivamente, alongamento assimétrico de $\text{—CH}_2\text{—}$ e C=O de grupos éster (BUENO et al., 2021; GAO et al., 2021).

A banda em 1719 cm^{-1} pode indicar a esterificação resultante da reticulação das hidroxilas dos polímeros com o agente reticulante ácido cítrico (MERCK et al., 2020; YU et al., 2020). Entretanto, pelo fato da banda ser pouco pronunciada, pode-se considerar que a reticulação não foi tão efetiva. Isso pode ser justificado pelo fato de que não foi empregado aquecimento para favorecer a desidratação do ácido cítrico formando anidrido para interação com as hidroxilas (BOZOVA; PETROV, 2021). Nesse caso, ocorreu majoritariamente a reticulação dos géis pelos ciclos de congelamento/descongelamento e não a formação de ligações covalentes pela adição de ácido cítrico.

Apenas no espectro do criogel de PVOH e zeína é observada uma banda no número de onda de 1658 cm^{-1} . Esse é um comportamento característico de proteínas, referente à região de amida I, indicando estiramento da carbonila ligada a este grupo funcional (GAO et al., 2021).

Bandas encontradas nos números de onda de 1430, 1320 e 1094 cm^{-1} são correspondentes ao estiramento assimétrico de grupos carboxilato, no primeiro, e estiramento C—O para o segundo e terceiro (BUENO et al., 2021).

A constatação de maior intensidade das bandas para o criogel P10Z pode, possivelmente, justificar o comportamento de melhor eficiência de extração desta fase sortiva. Nesse caso estariam disponíveis mais sítios de sorção como, por exemplo, OH e NH para ligações de hidrogênio, ao ser observada a banda em 3325 cm^{-1} com uma intensidade consideravelmente maior na fase com zeína. Outra banda como a encontrada em 2920 cm^{-1} se destaca expressivamente no criogel com zeína e dando indícios de sítios CH_2 para interações hidrofóbicas.

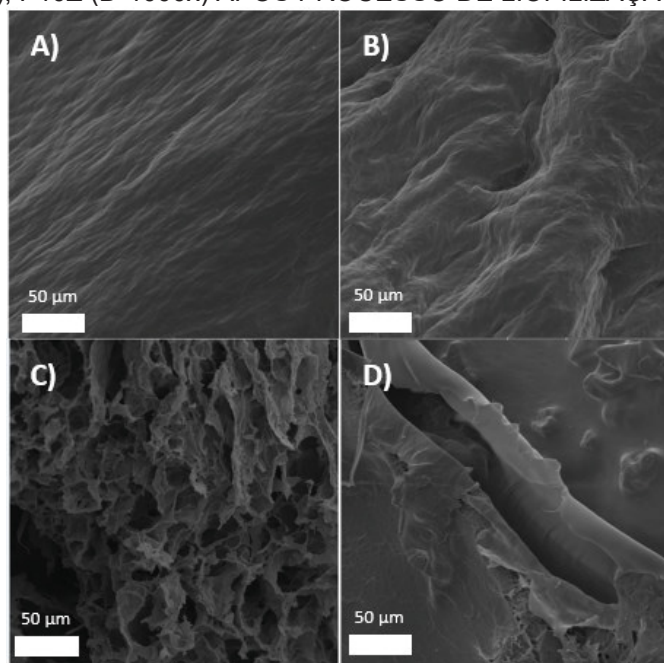
5.5.4 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

De acordo com a literatura (JONES et al., 2021), as condições de congelamento e descongelamento na síntese de hidrogéis/criogéis resultariam em macroporos interconectados. Para confirmar essa característica dos criogéis realizou-se o estudo da morfologia por meio da microscopia eletrônica de varredura (MEV).

Foi realizada a tentativa de análise da amostra sem qualquer preparo, deixando os géis secarem à temperatura ambiente. Entretanto, apesar de apresentarem aspecto de completa secagem, na análise de MEV foi constatada a presença de água e, com isso, a incidência do feixe de elétrons fazia com que ocorressem rupturas nas amostras.

Dessa forma foram avaliados diferentes tipos de preparo da amostra de forma que não afetasse a integridade estrutural da amostra. Os resultados da análise de MEV (imagens representativas) após preparo pelo procedimento de liofilização são apresentados na FIGURA 44.

FIGURA 44: MICROGRAFIA DOS CRIOGÉIS P10 (A– 1000x), P10A2 (B -974x), P10P2 (C- 1000x); P10Z (D-1000x) APÓS PROCESSO DE LIOFILIZAÇÃO



P10: PVOH 20% (m/v); **P10A2:** PVOH 10% (m/v) e alginato 2,0% (m/v); **P10P2:** PVOH 10% (m/v) e pectina 2,0% (m/v); **P10Z:** PVOH 10% (m/v) e zeína sólida na proporção 97:3 (m/m).

FONTE: A autora (2023)

Para a liofilização foi necessário o congelamento das amostras, o qual foi realizado logo após o último ciclo de síntese dos criogéis. Entretanto, nesse caso os géis foram liofilizados em condições nas quais estavam intumescidos e com um maior volume. Isso poderia acarretar a observação de poros que são inexistentes no processo de extração, uma vez que para serem aplicadas na SBSE as fases foram completamente secas a temperatura ambiente.

Apesar disso, não foram observados poros nas amostras P10 (FIGURA 44- A) e P10A2 (FIGURA 44- B). No primeiro caso é observada uma superfície homogênea e relativamente lisa em comparação com a rugosidade e cavidades visualizadas no gel PVOH/Alg. Essa maior rugosidade e presença de reentrâncias no criogel P10A2 dá indícios da intercalação das cadeias de alginato de sódio com o poli (álcool vinílico). Além disso, a morfologia observada pode acarretar o aumento a área superficial do criogel P10A2 em comparação com o P10, justificando também a maior capacidade de absorção de água verificada no ensaio do grau de intumescimento.

Diferentes morfologias foram observadas, porém, nas amostras P10P2 e P10Z. Na primeira (FIGURA 44- C) notam-se poros interconectados em toda a amostra, enquanto na segunda (FIGURA 44- D) há uma morfologia heterogênea.

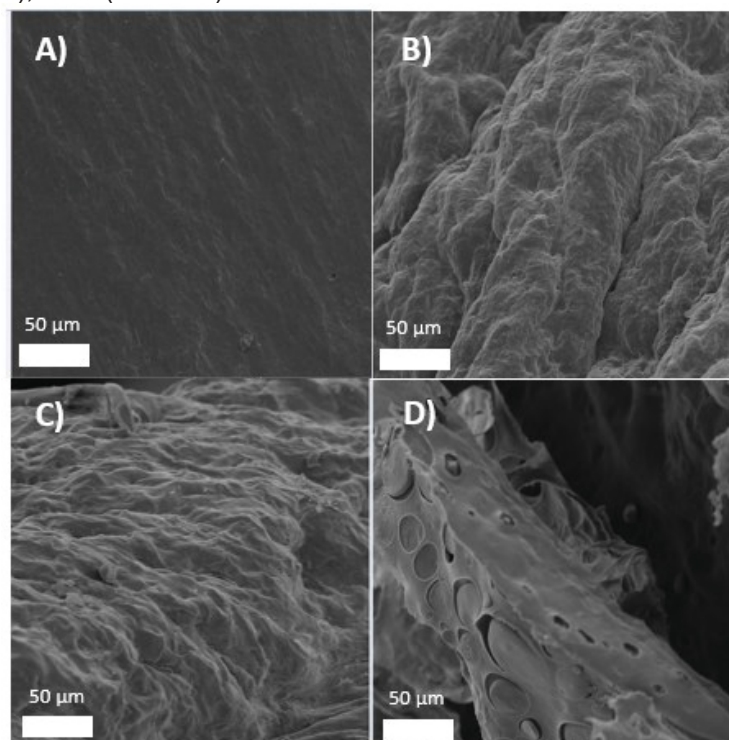
A porosidade do criogel PVOH/Pec também pode justificar o maior grau de intumescimento observado para esse material (em comparação com P10 e P10Z), já que a água pode permear através do gel e permanecer dentro dos poros.

Já a heterogeneidade da amostra P10Z corresponde à observação de aglomerados que, provavelmente, correspondem à zeína sólida que foi recoberta por PVOH, além de cavidades e poros. Entretanto, estes poros são constatados apenas em um trecho da extensão da amostra onde parece ter ocorrido uma ruptura na superfície que resultou na exposição de uma seção transversal.

Já os aglomerados podem ser justificados, possivelmente, pela estrutura globular da zeína que não foi dissociada no ambiente aquoso da dispersão de PVOH (GITERU; ALI; OEY, 2021). Além disso, há modelos (KIM; XU, 2008) que propõem um comportamento do tipo micela no qual os resíduos hidrofílicos da zeína interagem com o solvente expondo, então, os sítios hidrofóbicos. Isso pode apoiar a observação dos resultados de maior eficiência de extração da fase PVOH/Z e a hipótese de que a predominância é de interações hidrofóbicas.

Outro método de preparo avaliado foi a realização do processo de troca de solvente com etanol (FIGURA 45).

FIGURA 45: MICROGRAFIAS DOS CRIOGÉIS P10 (A – 1000x), P10A2 (B -1000x), P10P2 (C-1000x); P10Z(D-1000x) APÓS PROCESSO DE TROCA DE SOLVENTE



P10: PVOH 20% (m/v); **P10A2:** PVOH 10% (m/v) e alginato 2,0% (m/v); **P10P2:** PVOH 10% (m/v) e pectina 2,0% (m/v); **P10Z:** PVOH 10% (m/v) e zeína sólida na proporção 97:3 (m/m).

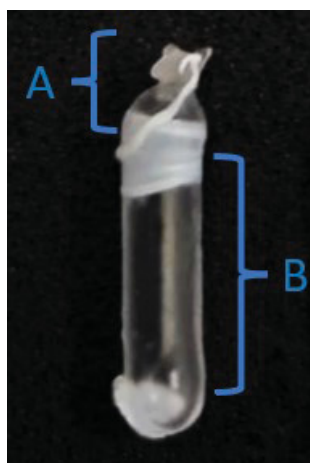
FONTE: A autora (2023)

As morfologias visualizadas após troca de solvente foram bastante semelhantes às observadas com liofilização no caso das amostras P10 e P10A2 (FIGURA 45 – A e B, respectivamente). A diferenciação ocorreu, contudo, para os criogéis P10P2 e P10Z sendo que, em ambos os casos, não foi possível a observação de poros. O material polimérico contendo pectina apresentou uma superfície semelhante ao gel contendo alginato de sódio: aspecto rugoso e com cavidades.

Com relação à fase contendo zeína, além da ausência de poros foram visualizadas depressões de aspecto circular que dão indícios de uma perda de material. Com a ausência dos aglomerados antes atribuídos à proteína, pode-se inferir que ocorreu a perda de zeína. A justificativa pode ser a da solubilidade da zeína em misturas de etanol e água e a reticulação física entre esta proteína e o poli (álcool vinílico). Assim, no período de 24 horas na mistura etanol:água (50:50 v/v) e em etanol, totalizando 48 horas, haveria tempo para ocorrer o desprendimento e solubilização da zeína.

Com estes ensaios preliminares foram levantadas hipóteses a respeito da influência do intumescimento nas morfologias observadas e possíveis regiões distintas no recobrimento da barra com o criogel. Essas regiões distintas seriam a do topo da barra (região A da FIGURA 46) na qual há uma maior massa de criogel e ausência da barra de vidro e a região de recobrimento de todo o vidro (região B da FIGURA 46) por um filme de criogel.

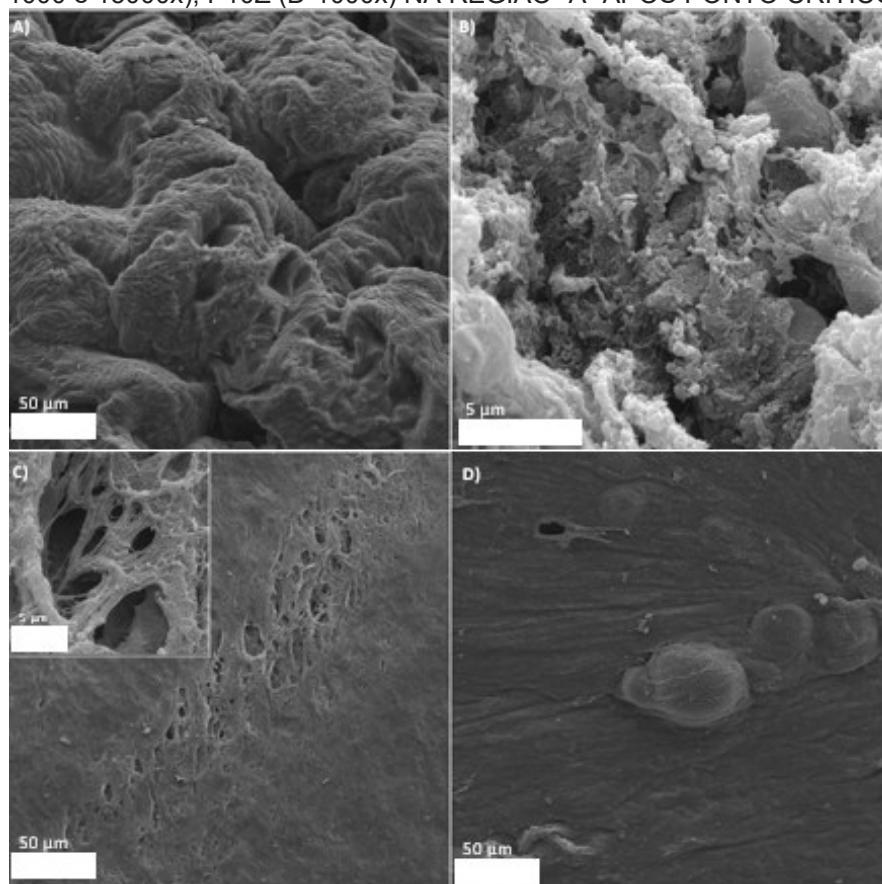
FIGURA 46: BARRA DE VIDRO RECOBERTA COM CRIOGEL DE PVOH 10% (m/v) E APRESENTAÇÃO DE REGIÕES DISTINTAS “A” (TOPO DO DISPOSITIVO) E “B” (RECOBRIMENTO DA BARRA DE VIDRO)



FONTE: A autora (2023)

Para sanar essas dúvidas foi realizado um novo ensaio aplicando o preparo da amostra com ponto crítico e foram obtidas micrografias nas regiões A e B. Nesse caso, as fases de criogel foram intumescidas pelo período de uma hora (simulando o processo de extração) e foi realizado um corte na região A para observação da morfologia da seção transversal. As micrografias obtidas na superfície da região A são apresentadas na FIGURA 47.

FIGURA 47: MICROGRAFIA DOS CRIOGÉIS P10 (A – 1000x), P10A2 (B -15000x), P10P2 (C-1000 e 15000x); P10Z (D-1000x) NA REGIÃO “A” APÓS PONTO CRÍTICO



P10: PVOH 20% (m/v); **P10A2:** PVOH 10% (m/v) e alginato 2,0% (m/v); **P10P2:** PVOH 10% (m/v) e pectina 2,0% (m/v); **P10Z:** PVOH 10% (m/v) e zeína sólida na proporção 97:3 (m/m).

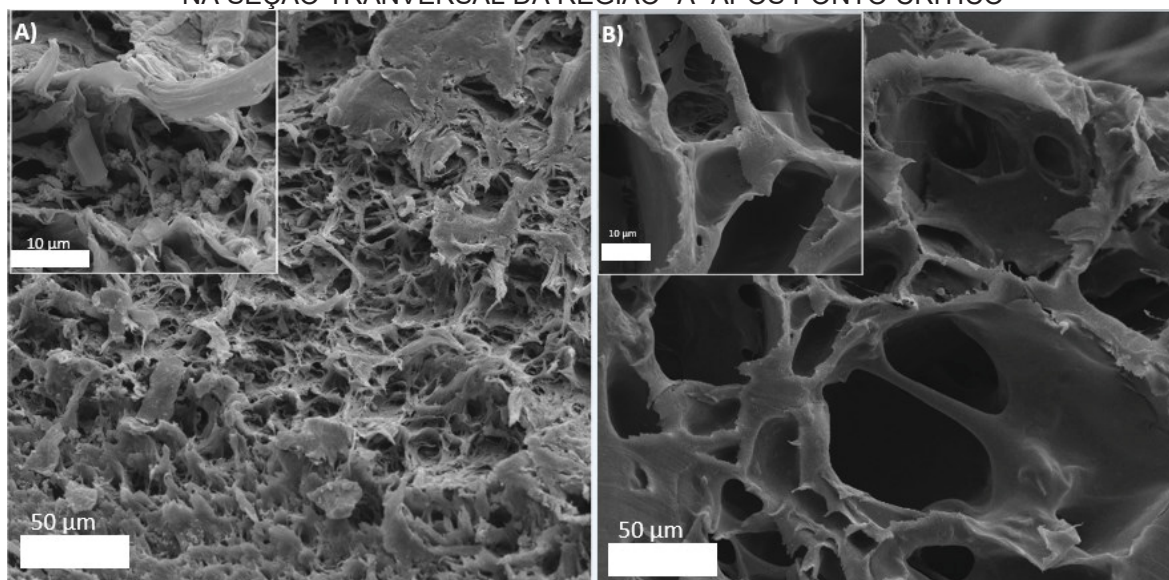
FONTE: A autora (2023)

Observa-se que no criogel de poli (álcool vinílico), na região A, a morfologia apresenta bastante rugosidade e reentrâncias fechadas (FIGURA 47 – A). Já na fase P10A2 (FIGURA 47 – B), além de cavidades, é também possível observar uma superfície heterogênea tridimensional que dá indícios da imiscibilidade e reticulação dos polímeros PVOH e alginato de sódio. Considera-se que esta estrutura tridimensional pode aumentar a área superficial e acarretar uma maior absorção de água, corroborando os resultados obtidos para o grau de intumescimento.

Para o criogel P10P2 a análise por MEV permitiu a visualização de uma superfície com aspecto liso com uma região porosa (FIGURA 47 – C). Com uma maior magnificação foi observada uma rede tridimensional de aspecto rugoso e com a presença de cavidades. Essa morfologia também dá indícios de uma maior capacidade de permeação de água, justificando o elevado teor de intumescimento obtido para essa fase. Por fim, na amostra P10Z (FIGURA 47 – D) tem-se uma superfície relativamente lisa com a presença de, provavelmente, partículas de zeína.

Quando realizado o corte para análise da seção transversal, apenas os géis P10P2 e P10Z apresentaram morfologia distinta da observada na superfície (FIGURA 48).

FIGURA 48: MICROGRAFIA DOS CRIOGÉIS P10P2 (A-1000 e 8000x) e P10Z (B-1000 e 5000x) NA SEÇÃO TRANVERSAL DA REGIÃO “A” APÓS PONTO CRÍTICO



P10P2: PVOH 10% (m/v) e pectina 2,0% (m/v);
P10Z: PVOH 10% (m/v) e zeína sólida na proporção 97:3 (m/m).
 FONTE: A autora (2023)

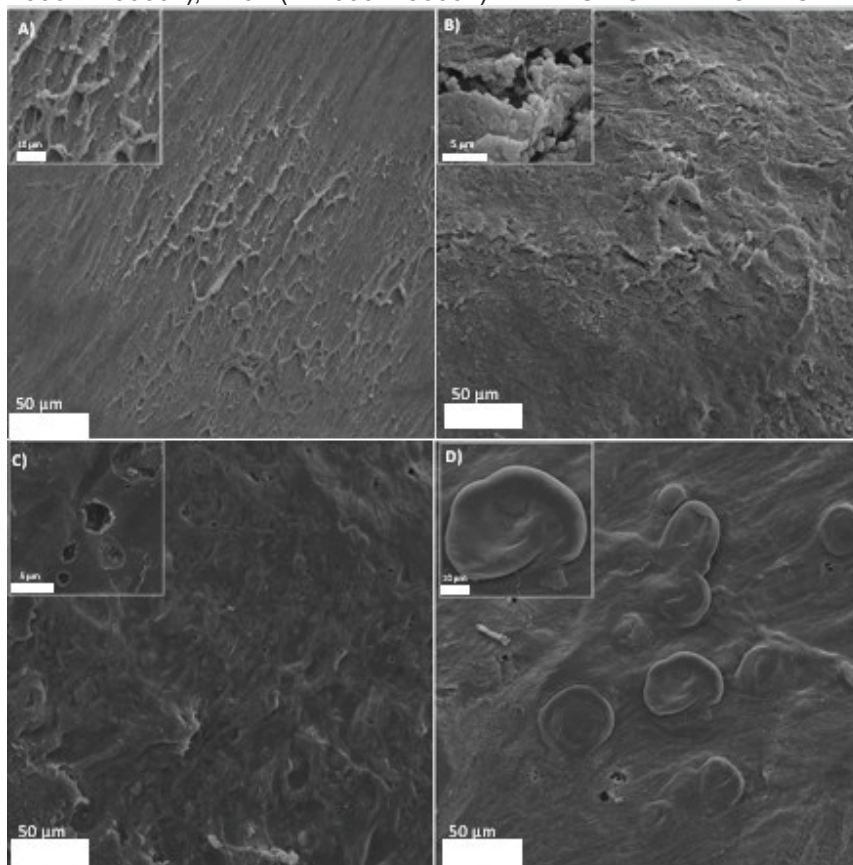
No material P10P2 é observada uma grande quantidade de poros e, na magnificação de 8000 vezes, a presença de aglomerados esféricos que podem, possivelmente, corresponder à pectina. Já na seção transversal do criogel P10Z na região A são observados poros interconectados com, aparentemente, maior diâmetro. Além disso, o aspecto áspero é encontrado somente na superfície, uma vez que a seção transversal apresenta estrutura lisa e uniforme.

Assim, de forma geral, na região A foram encontradas superfícies rugosas com cavidades em todos os criogéis. Entretanto, somente as fases P10P2 e P10Z apresentaram rede tridimensional com poros interconectados e apenas na seção

transversal. Uma vez que a presença de poros pode favorecer a absorção de água, esses resultados, com exceção da fase P10P2, não são os esperados, já que o criogel de P10Z, juntamente com o P10, apresenta os menores resultados de capacidade de intumescimento.

A análise da morfologia da região B por microscopia eletrônica de varredura é apresentada na FIGURA 49.

FIGURA 49: MICROGRAFIA DOS CRIOGÉIS P10 (A – 1000 e 5000x), P10A2 (B -1000 e 15000x), P10P2 (C-1000 e 15000x); P10Z (D-1000 e 5000x) NA REGIÃO “B” APÓS PONTO CRÍTICO



P10: PVOH 20% (m/v); **P10A2:** PVOH 10% (m/v) e alginato 2,0% (m/v); **P10P2:** PVOH 10% (m/v) e pectina 2,0% (m/v); **P10Z:** PVOH 10% (m/v) e zeína sólida na proporção 97:3 (m/m).

FONTE: A autora (2023)

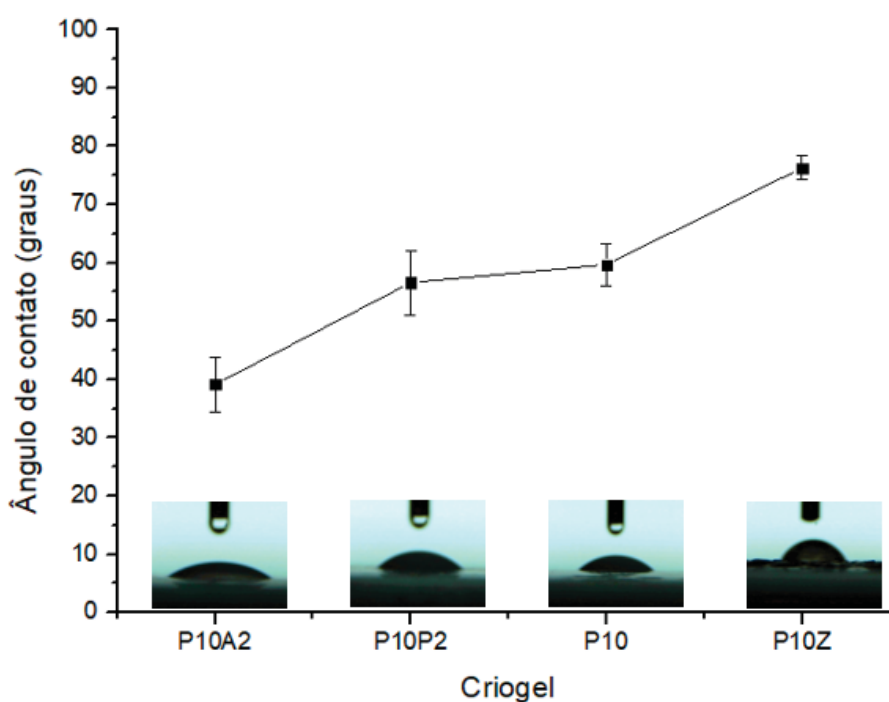
Nesse caso é possível observar que não há a presença de poros na superfície de quaisquer criogéis avaliados. Uma possível justificativa seria que, no momento da síntese do criogel, a imersão da barra de vidro no molde contendo a mistura polimérica faz com que a espessura do recobrimento polimérico, nesta região B, seja menor e após a completa secagem forme apenas um filme. Assim possíveis poros seriam compactados e apenas poucas cavidades são observadas. Além disso, ganha destaque a observação de esferas na fase P10A2 que podem, possivelmente, serem atribuídas ao alginato de sódio.

Em resumo, observou-se que de fato há variações na morfologia conforme a região de recobrimento do gel na barra. Quando o recobrimento apresenta maior espessura, como na região A, a morfologia é mais rugosa e, na seção transversal, porosa para algumas fases. Já na região de filme em B, a superfície é mais lisa e não foram observados poros.

5.5.5 Ângulo de contato

Também foi realizada a avaliação da molhabilidade dos criogéis com o estudo de ângulo de contato com método da gota séssil. Depositou-se uma gota de água destilada na superfície, em três posições distintas, do filme de cada criogel. Foram obtidos os ângulos de contato da gota com a superfície tanto do lado direito quanto do esquerdo FIGURA 50.

FIGURA 50: MÉDIA DO ÂNGULO DE CONTATO (N=3) DE GOTAS DE ÁGUA DESTILADA SOB A SUPERFÍCIE DOS CRIOGÉIS P10, P10A2, P10P2 E P10Z NA PROPORÇÃO DE 97:3 (m/m)



P10: PVOH 20% (m/v); **P10A2:** PVOH 10% (m/v) e alginato 2,0% (m/v); **P10P2:** PVOH 10% (m/v) e pectina 2,0% (m/v); **P10Z:** PVOH 10% (m/v) e zeína sólida na proporção 97:3 (m/m).

FONTE: A autora (2023)

Os resultados do ângulo de contato estão apresentados na ordem crescente da média do ângulo de contato em ambos os lados. Pode-se constatar que a fase somente com PVOH apresenta distinção das demais fases com a adição dos polímeros alginato de sódio ou zeína. Com a adição da zeína, observa-se um

aumento do ângulo de contato, indicando um comportamento mais hidrofóbico desse criogel. Já para a fase com alginato de sódio é constatada uma diminuição do ângulo de contato, permitindo a dedução de que a adição desse biopolímero acarreta uma maior hidrofilicidade do gel.

Para comparação das médias do ângulo de contato para os criogéis P10 e P10P2 foram realizados teste F e t. Verificou-se que a variância com significância de 5% entre as medidas dessas amostras é equivalente ($F = 1,45$, $F_{\text{crítico}} = 19$) e que as médias dos ângulos de contato para os dois géis são estatisticamente distintas ($t_{\text{bi-caudal}} = 4,18$; $t_{\text{crítico bi-caudal}} = 2,78$).

Assim, as medidas de ângulo de contato corroboram os resultados obtidos de eficiência de sorção e grau de intumescimento. Isso porque as fases sortivas com maior eficiência de extração apresentaram maiores valores de ângulo de contato, indicando um comportamento hidrofóbico da superfície e apresentaram menor teor de absorção de água. Já as fases com maior grau de intumescimento, exibiram menor eficiência de sorção e maior molhabilidade da gota de água, resultando em valores de ângulo de contato menores.

Com isso, há novamente indícios de que a interação predominante para sorção é a hidrofóbica e os criogéis com superfície de caráter menos polar apresentam uma maior eficiência para interação com os analitos.

Assim, de forma geral, os ensaios de caracterização físico-química dos criogéis permitiram a obtenção de informações da capacidade de absorção de água, o efeito do equilíbrio de intumescimento e a influência desses parâmetros na eficiência de extração. Também foi possível verificar a resposta dos géis à estímulos como variação da força-iônica, além de indícios da predominância das interações hidrofóbicas para sorção dos compostos analisados.

Foram também observadas características heterogêneas de morfologia dessas fases sorventes de acordo com cada tipo de criogel, a região analisada, bem como os diferentes tipos de preparo das amostras. Ainda, foram observados indícios de que a reticulação dos criogéis sintetizados ocorreu, principalmente, de forma física devido aos ciclos de congelamento e descongelamento.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS E CONCLUSÃO

Diante dos resultados discutidos, é possível concluir que se atingiu com êxito o desenvolvimento de fases sortivas baseadas em criogéis para SBSE. A avaliação da aplicabilidade destas fases foi realizada com base na extração de compostos de diferentes classes e características físico-químicas. Todas as fases de criogel possibilitaram a extração de todas as substâncias estudadas, apesar de não ter sido realizada otimização das condições de extração. Isso demonstra uma relevante vantagem de comportamento anfifílico dos materiais e um potencial de extração que pode ainda ser aperfeiçoado no desenvolvimento de uma metodologia analítica.

Confirmou-se que o processo de congelamento e descongelamento durante a síntese do hidrogel permite a obtenção de um material com propriedades adequadas. Algumas delas são estabilidade mecânica suficiente para suportar agitação vigorosa por longos períodos, mudanças de solvente, presença de diferentes componentes de matrizes biológicas e ambientais e aplicação de agitação em banho ultrassônico, além de reticulação eficiente.

O dispositivo SBSE foi preparado com materiais de baixo custo e/ou reaproveitados, como pregos comerciais e ponteiros de micropipeta. Além disso, os polímeros empregados para síntese dos hidrogéis são majoritariamente naturais, biocompatíveis, biodegradáveis e de baixa toxicidade. Cabe destacar que os polímeros pectina cítrica e zeína são, inclusive, obtidos como co-produtos de resíduos industriais. Assim, é fruto desse trabalho um dispositivo de extração que vai ao encontro da Química Analítica Verde: dispositivo para técnica miniaturizada de extração com pequeno volume de solvente e amostra, aplicação de produtos reaproveitados e de relativamente baixo custo (entre 5 e 10 centavos de real) que são majoritariamente naturais e um dispositivo que pode ser reaproveitado, eliminando descarte de após único uso.

Foi verificado que, apesar dos polímeros empregados na síntese das fases sortivas terem sítios hidrofílicos, provavelmente a interação predominante no processo de sorção é hidrofóbica. Essa hipótese é apoiada pelos resultados obtidos de eficiência de extração para a fase P10Z, bandas observadas na espectroscopia de infravermelho, maior ângulo de contato para a fase contendo zeína, influência do intumescimento para sorção, além das hipóteses elaboradas para o efeito matriz observado. Nesse caso, considerou-se os analitos preferencialmente interagem

com a água do ambiente das matrizes avaliadas. Os resultados obtidos também permitiram observar que as fases são estímulo-responsivas ao pH e força iônica, principalmente no caso dos criogéis com os biopolímeros alginato de sódio e pectina.

Teve-se êxito também na compreensão do efeito matriz de diferentes matrizes, biológicas e ambientais, no processo de sorção. Os resultados são de grande importância, uma vez que são poucos trabalhos encontrados na literatura abordando fluidos biológicos. Apesar da grande complexidade das matrizes com a presença, por exemplo, de proteínas, óleos, e matéria orgânica, todas as fases avaliadas foram capazes de realizar a sorção de todos os analitos. Isso também demonstrou um excelente potencial de aplicação do dispositivo SBSE avaliados em diferentes matrizes complexas.

Ressalta-se que a finalidade deste projeto não foi o de desenvolvimento de uma metodologia exclusiva para os analitos selecionados no sistema analítico GC/MS. Ao invés, pretendeu-se a avaliação da aplicabilidade destas novas fases, visando compreender as interações com os compostos e as matrizes, de forma a contribuir com diversas áreas do conhecimento. Assim, conclui-se que os resultados obtidos até o momento já permitiram importantes discussões a respeito da aplicabilidade destas fases sortivas baseadas em géis em uma técnica ainda pouco explorada no contexto de géis poliméricos.

REFERÊNCIAS

- ABBAS, S. et al. Metabolism of Parabens (4-Hydroxybenzoic Acid Esters) by Hepatic Esterases and UDP-Glucuronosyltransferases in Man. **Drug Metabolism and Pharmacokinetics**, v. 25, n. 6, p. 568–577, 2010.
- ABD EL-GHAFFAR, M. A. et al. PH-sensitive sodium alginate hydrogels for riboflavin controlled release. **Carbohydrate Polymers**, v. 89, n. 2, p. 667–675, 20 jun. 2012.
- ABDELSALAM, A. M. et al. Surface-tailored zein nanoparticles: Strategies and applications. **Pharmaceutics**, v. 13, n. 9, p. 1–25, 2021.
- ABKA-KHAJOU EI, R. et al. Structures, Properties and Applications of Alginates. **Marine Drugs**, v. 20, n. 6, 1 jun. 2022.
- ABUBSHAIT, H. A. et al. Co-doped zinc oxide nanoparticles embedded in Polyvinylalcohol Hydrogel as solar light derived photocatalyst disinfection and removal of coloured pollutants. **Journal of Molecular Structure**, v. 1271, 5 jan. 2023.
- ADELNIA, H. et al. Freeze/thawed polyvinyl alcohol hydrogels: Present, past and future. **European Polymer Journal**, v. 164, n. October 2021, p. 110974, 2022.
- AKER, A. M. et al. Phenols and parabens in relation to reproductive and thyroid hormones in pregnant women. **Environmental Research**, v. 151, p. 30–37, 1 nov. 2016.
- ALBERO, B. et al. Occurrence and analysis of parabens in municipal sewage sludge from wastewater treatment plants in Madrid (Spain). **Journal of Hazardous Materials**, v. 239–240, p. 48–55, 2012.
- ALEMZADEH, K. et al. Development of a Chewing Robot with Built-in Humanoid Jaws to Simulate Mastication to Quantify Robotic Agents Release from Chewing Gums Compared to Human Participants. **IEEE Transactions on Biomedical Engineering**, v. 68, n. 2, p. 492–504, 2021.
- ALLES, M. S.; SCHOLTENS, P. A. M. J.; BINDELS, J. G. Current trends in the composition of infant milk formulas. **Current Paediatrics**, v. 14, n. 1, p. 51–63, 2004.
- ALMEIDA, C. C. et al. Bioactive Compounds in Infant Formula and Their Effects on Infant Nutrition and Health: A Systematic Literature Review. **International Journal of Food Science**, v. 2021, 2021.
- ALMEIDA, P. D. V. DE et al. Saliva Composition and Functions : a comprehensive review. **Journal of Contemporary Dental Practice**, v. 9, n. 3, p. 72–80, 2008.
- ALVI, S.; HAMMAMI, M. An improved method for measurement of testosterone in human plasma and saliva by ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Journal of Advanced Pharmaceutical Technology and Research**, v. 11, n. 2, p. 64–68, 2020.
- ANDRADE, F. et al. Review stimuli-responsive hydrogels for cancer treatment: The role of ph, light, ionic strength and magnetic field. **Cancers**, v. 13, n. 5, p. 1–17, 2021.
- ANDREAS, N. J.; KAMPMANN, B.; MEHRING LE-DOARE, K. Human breast milk: A review on its composition and bioactivity. **Early Human Development**, v. 91, n. 11, p. 629–635, 2015.
- ANGERER, J.; EWERS, U.; WILHELM, M. Human biomonitoring : State of the art. **International Journal of Hygiene and Environmental Health**, v. 210, p. 201–228, 2007.

- ANNAMALAI, JAYSHREE; NAMASIVAYAN, VASUDEVAN. Endocrine disrupting chemicals in the atmosphere: their effects on humans and wildlife. **Environment International**, v. 76, p. 78–97, 2015.
- ATSDR. Toxicological Profile for Chlorpyrifos. **Agency for Toxic Substances and Disease Registry**, n. 205, p. 24, 1997.
- ATUKORALLAYA, D. S.; RATNAYAKE, R. K. Oral Mucosa, Saliva, and COVID-19 Infection in Oral Health Care. **Frontiers in Medicine**, v. 8, n. April, p. 1–9, 2021.
- AUGUSTO, F. et al. New materials and trends in sorbents for solid-phase extraction. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 43, p. 14–23, 2013.
- AWASTHI, S. A Review on Hydrogels and Ferrogels for Biomedical Applications. **JOM**, v. 73, n. 8, p. 2440–2451, 1 ago. 2021.
- AYAZI, Z.; SHEKARI ESFAHLAN, F. A monolithic mixed matrix membrane based on silver nanoparticle/nylon-6 nanocomposite: A novel coating for stir bar sorptive extraction of organophosphorus pesticides. **Separation Science Plus**, n. November 2020, p. 251–265, 2021.
- BABANEJAD, N. et al. Advances in cryostructures and their applications in biomedical and pharmaceutical products. **Polymer Bulletin**, n. 0123456789, 2023.
- BAGHERI, H.; SABER, A.; MOUSAVI, S. R. Immersed solvent microextraction of phenol and chlorophenols from water samples followed by gas chromatography-mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1046, n. 1–2, p. 27–33, 2004.
- BAGHIZADEH FINI, M. Oral saliva and COVID-19. **Oral Oncology**, v. 108, n. May, p. 104821, 2020.
- BAJPAI, A. K. et al. Responsive polymers in controlled drug delivery. **Progress in Polymer Science (Oxford)**, v. 33, n. 11, p. 1088–1118, 2008.
- BALLARD, O.; MORROW, A. L. Human Milk Composition. Nutrients and Bioactive Factors. **Pediatric Clinics of North America**, v. 60, n. 1, p. 49–74, 2013.
- BALLESTEROS, E.; GALLEGO, M.; VALCÁRCEL, M. Gas chromatographic determination of phenol compounds with automatic continuous extraction and derivatization. **Journal of Chromatography A**, v. 518, n. C, p. 59–67, 1990.
- BALTUSSEN, E. et al. Study into the equilibrium mechanism between water and poly(dimethylsiloxane) for very apolar solutes: adsorption or sorption? **Analytical Chemistry**, v. 71, n. 22, p. 5213–5216, 1999.
- BARANDIARAN, I. et al. Effect of γ -Fe₂O₃ Nanoparticles on the Cross-Linking and Final Properties of PVA/Citric Acid-Based Nanocomposites. **Journal of Physical Chemistry C**, v. 124, n. 9, p. 5444–5451, 5 mar. 2020.
- BARR, D. B. Biomonitoring of exposure to pesticides. **Journal of Chemical Health and Safety**, v. 15, n. 6, p. 20–29, 2008.
- BARR, L. et al. Measurement of paraben concentrations in human breast tissue at serial locations across the breast from axilla to sternum. **Journal of Applied Toxicology**, v. 32, n. 3, p. 219–232, 2012.
- BIE, H. et al. 3D Printing and Performance Study of Porous Artificial Bone Based on HA-ZrO₂-PVA Composites. **Materials**, v. 16, n. 3, 1 fev. 2023.
- BLANCO-PÉREZ, F. et al. The Dietary Fiber Pectin: Health Benefits and Potential for the Treatment of Allergies by Modulation of Gut Microbiota. **Current Allergy and Asthma Reports**, v. 21, n. 10, 2021.
- BLEDZKA, D.; GROMADZINSKA, J.; WASOWICZ, W. Parabens. From environmental studies to human health. **Environment international**, v. 67, p. 27–42, 2014.

- BOUMAN, J. et al. Controlled Release from Zein Matrices: Interplay of Drug Hydrophobicity and pH. **Pharmaceutical Research**, v. 33, n. 3, p. 673–685, 1 mar. 2016.
- BOZOVA, N.; PETROV, P. D. Highly Elastic Super-Macroporous Cryogels Fabricated by Thermally Induced Crosslinking of 2-Hydroxyethylcellulose. **Molecules**, 2021.
- BRAHMAND, M. B. et al. Evaluation of chlorpyrifos residue in breast milk and its metabolite in urine of mothers and their infants feeding exclusively by breast milk in north of Iran. **Journal of Environmental Health Science and Engineering**, v. 17, n. 2, p. 817–825, 2019.
- BRASIL. Relatório Nacional de Vigilância em Saúde de Populações Expostas a Agrotóxicos. **Ministério da Saúde**, 2016.
- BRITO, C. W. DE et al. Síntese e caracterização de hidrogéis compósitos a partir de copolímeros acrilamida-acrilato e caulim: efeito da constituição de diferentes caulins do nordeste brasileiro. **Química Nova**, v. 36, n. 1, p. 40–45, 2013.
- BUENO, J. N. N. et al. Films based on mixtures of zein, chitosan, and PVA: Development with perspectives for food packaging application. **Polymer Testing**, v. 101, 1 set. 2021.
- BURATO, J. S. DA S. et al. Recent advances and trends in miniaturized sample preparation techniques. **Journal of Separation Science**, v. 43, n. 1, 2020.
- CABALEIRO, N. et al. An overview of sample preparation for the determination of parabens in cosmetics. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 57, p. 34–46, 2014.
- CALDAS, S. S.; GONÇALVES, F. F.; PRIMEI, E. G. Principais técnicas de preparo de amostra para a determinação de resíduos de agrotóxicos em água por cromatografia líquida por detecção por arranjo de diodos e por espectroscopia de massas. **Química Nova**, v. 34, n. 9, p. 1604–1617, 2011.
- CAMPOS, É. et al. Exposure to pesticides and mental disorders in a rural population of Southern Brazil. **NeuroToxicology**, v. 56, p. 7–16, 2016.
- CANTERI, M. H. G. et al. Pectina: da Matéria-Prima ao Produto Final. **Polímeros**, v. 22, n. 2, p. 149–157, 2012.
- CARDOSO, A. G. et al. Electrochemical sensing of analytes in saliva : Challenges, progress, and perspectives. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 160, p. 116965, 2023.
- CARLOS JOAQUÍN PÉREZ-GUZMÁN; ROBERTO CASTRO-MUÑOZ. A Review of Zein as a Potential Biopolymer for Tissue Engineering and Nanotechnological Applications. **Processes**, 2020.
- CASTILHOS, N. D. B. et al. Physical-chemical characteristics and potential use of a novel alginate/zein hydrogel as the sorption phase for polar organic compounds. **Carbohydrate Polymers**, v. 174, p. 507–516, 2017.
- CASTRO, G. R. et al. Emulsan-alginate beads for protein adsorption. **Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition**, v. 20, n. 4, p. 411–426, 2009.
- CAVALCANTE, E. H. M. et al. Antibacterial activity of chitosan and zinc oxide impregnated in PVA-based membranes. **Research, Society and Development**, v. 12, n. 3, p. e23812340720, 14 mar. 2023.
- CHARLES, A. K.; DARBRE, P. D. Combinations of parabens at concentrations measured in human breast tissue can increase proliferation of MCF-7 human breast cancer cells. **Journal of Applied Toxicology**, v. 33, n. 5, p. 390–398, 2013.
- CHAVAN, P. N. et al. Study of nanobiomaterial hydroxyapatite in simulated body fluid : Formation and growth of apatite. **Materials Science & Engineering B**, v. 168, n. 1–3, p. 224–230, 2010.

- CHAVES, A. R.; QUEIROZ, M. E. C. Extração sortiva em barra de agitação para análise de fármacos em fluidos biológicos. **Química Nova**, v. 31, n. 7, p. 1814–1819, 2008.
- CHEN, J. et al. Pectin Modifications : A Review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 8398, 2015.
- CHEN, Y. et al. Cationic Modified PVA Hydrogels Provide Low Friction and Excellent Mechanical Properties for Potential Cartilage and Orthopedic Applications. **Macromolecular Bioscience**, v. 23, n. 1, 1 jan. 2023.
- CHING, S. H.; BANSAL, N.; BHANDARI, B. Alginate gel particles—A review of production techniques and physical properties. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 57, n. 6, p. 1133–1152, 2017.
- CHOJNOWSKA, S. et al. Human saliva as a diagnostic material. **Advances in Medical Sciences**, v. 63, n. 1, p. 185–191, 2018.
- COCHRAN, R. C. et al. Chlorpyrifos: Hazard assessment based on a review of the effects of short-term and long-term exposure in animals and humans. **Food and Chemical Toxicology**, v. 33, n. 2, p. 165–172, 1995.
- COELHO, D. et al. Advances in Sample Preparation A review on recent applications of deep eutectic solvents in microextraction techniques for the analysis of biological matrices. **Advances in Sample Preparation**, v. 1, n. December 2021, 2022.
- COLOMBO, R. SBSE(EG-Silicone)-UFLC-MS/MS and HPLC-Flu Analysis of Norharman in. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 30, n. 11, p. 2324–2333, 2019.
- COSTA, R. Newly Introduced Sample Preparation Techniques : Towards Miniaturization. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, v. 8347, n. May, 2014.
- DARBAN, Z. et al. Hydrogel-Based Adsorbent Material for the Effective Removal of Heavy Metals from Wastewater: A Comprehensive Review. **Gels**, v. 8, n. 5, 1 maio 2022.
- DARBRE, P. D. et al. Concentrations of Parabens in Human Breast Tumours. **Journal of Applied Toxicology**, v. 24, p. 5–13, 2004.
- DARBRE, P. D. **Endocrine disruption and human health**. 1st. ed. [s.l.] Elsevier Inc., 2015.
- DAVID, F.; OCHIAI, N.; SANDRA, P. Two decades of stir bar sorptive extraction: A retrospective and future outlook. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 112, p. 102–111, 2019.
- DE OLIVEIRA, A. R. M. et al. Microextração em fase líquida (LPME): Fundamentos da técnica e aplicações na análise de fármacos em fluidos biológicos. **Química Nova**, v. 31, n. 3, p. 637–644, 2008.
- DE OLIVEIRA, M. L. et al. Determination of 17 potential endocrine-disrupting chemicals in human saliva by dispersive liquid-liquid microextraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Talanta**, v. 196, n. November 2018, p. 271–276, 2019.
- DICKINSON, E. Microgels - An alternative colloidal ingredient for stabilization of food emulsions. **Trends in Food Science and Technology**, v. 43, n. 2, p. 178–188, 1 jun. 2015.
- DIEZ-SIMON, C. et al. Stir bar sorptive extraction of aroma compounds in soy sauce: Revealing the chemical diversity. **Food Research International**, v. 144, n. March, p. 110348, 2021.
- DUNN, R. L.; CAREY, G. B. Developing a biomonitoring educational pamphlet for potential participants in a breast milk biomonitoring study. **Journal of Human Lactation**, v. 26, n. 2, p. 183–186, 2010.

- ECHEVERRIA, C. et al. Functional stimuli-responsive gels: Hydrogels and microgels. **Gels**, v. 4, n. 2, 1 jun. 2018.
- ECHEVERRI-JARAMILLO, G. et al. Cytotoxic and estrogenic activity of chlorpyrifos and its metabolite 3, 5, 6-trichloro-2-pyridinol. Study of marine yeasts as potential toxicity indicators. **Ecotoxicology**, p. 104–117, 2021.
- EHSAN, M. et al. Recent advances in sodium alginate-based membranes for dehydration of aqueous ethanol through pervaporation. **Journal of Polymer Science**, v. 60, n. 16, p. 2435–2453, 15 ago. 2022.
- ELMONGY, H.; ABDEL-REHIM, M. Saliva as an alternative specimen to plasma for drug bioanalysis. A review. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 83, p. 70–79, 2016.
- ESTEBAN, M.; CASTAÑO, A. Non-invasive matrices in human biomonitoring: A review. **Environment International**, v. 35, n. 2, p. 438–449, 2009.
- EU. **Regulation (EC) N° 1223/2009. European Parliament and the Council of the European Union**, 2009.
- FANG, X. et al. g-C₃N₄/polyvinyl alcohol-sodium alginate aerogel for removal of typical heterocyclic drugs from water. **Environmental Pollution**, v. 319, 15 fev. 2023.
- FARAJZADEH, M. A.; MARZI KHOSROWSHAHI, E.; KHOSHMMARAM, L. Simultaneous derivatization and microextraction of parabens in different matrices followed by GC-FID. **Journal of the Iranian Chemical Society**, v. 12, n. 6, p. 1061–1069, 2015.
- FARAJZADEH, M. A.; NOURI, N.; KHORRAM, P. Derivatization and microextraction methods for determination of organic compounds by gas chromatography. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 55, p. 14–23, 2014.
- FARIA, N. M. X.; FASSA, A. G.; MEUCCI, R. D. Association between pesticide exposure and suicide rates in Brazil. **NeuroToxicology**, v. 45, p. 355–362, 2014.
- FENG, L. et al. Electrochemical oxidation of Naproxen in aqueous matrices: Elucidating the intermediates' eco-toxicity, by assessing its degradation pathways via experimental and density functional theory (DFT) approaches. **Chemical Engineering Journal**, v. 451, n. P1, p. 138483, 2023.
- FERNANDES, J. P. DOS S. et al. Estudo das relações entre estrutura e atividade de parabenos: uma aula prática. **Química Nova**, v. 36, n. 6, p. 890–893, 2013.
- FERNANDO, I. P. S. et al. Alginate-based nanomaterials: Fabrication techniques, properties, and applications. **Chemical Engineering Journal**, v. 391, 1 jul. 2020.
- FREIRE, C.; KOIFMAN, S. Pesticides, depression and suicide: A systematic review of the epidemiological evidence. **International Journal of Hygiene and Environmental Health**, v. 216, n. 4, p. 445–460, 2013.
- FRENT, O. D. et al. Sodium Alginate—Natural Microencapsulation Material of Polymeric Microparticles. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 20, 1 out. 2022.
- FU, H. et al. Simultaneous detection of topramezon, atrazine, and atrazine metabolite residues in environmental water by large-volume SPE-UPLC-MS / MS. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, p. 1–10, 2022.
- GAGLIARDI, A. et al. Characterization and refinement of zein-based gels. **Food Hydrocolloids**, v. 101, 1 abr. 2020.
- GALUSZKA, A.; MIGASZEWSKI, Z.; NAMIESNIK, J. The 12 principles of green analytical chemistry and the SIGNIFICANCE mnemonic of green analytical practices. **Trends in analytical chemistry**, v. 50, p. 78–84, 2013.

- GAO, X. et al. Adsorption of heavy metal ions by sodium alginate based adsorbent-a review and new perspectives. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 164, p. 4423–4434, 1 dez. 2020.
- GAO, Y. et al. Physicochemical properties of zein films cross-linked with glutaraldehyde. **Polymer Bulletin**, 2021.
- GARCIA-CRUZ, C. H.; FOGGETTI, U.; SILVA, A. N. DA. Alginato bacteriano: Aspectos tecnológicos, características e produção. **Química Nova**, v. 31, n. 7, p. 1800–1806, 2008.
- GAVRILESCU, M. et al. Emerging pollutants in the environment : present and future challenges in biomonitoring , ecological risks and bioremediation. **New Biotechnology**, v. 32, n. 1, p. 147–156, 2015.
- GAWKOWSKA, D.; JUSTYNA CYBULSKA; ARTUR ZDUNEK. Structure-Related Gelling of Pectins and Linking with Other Natural Compounds: A Review. **Polymers**, v. 10, n. 762, 2018.
- GERALDO, E. et al. Alternative matrices in forensic toxicology : a critical review. **Forensic Toxicology**, v. 40, n. 1, p. 1–18, 2022.
- GHISELLI, G.; JARDIM, W. F. Interferentes endócrinos no ambiente. **Química Nova**, v. 30, n. 3, p. 695–706, 2007.
- GIGL, M. et al. Identification and Quantitation of Reaction Products from Chlorogenic Acid, Caffeic Acid, and Their Thermal Degradation Products with Odor-Active Thiols in Coffee Beverages. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 70, p. 5427–5437, 2022.
- GILART, N. et al. New coatings for stir-bar sorptive extraction of polar emerging organic contaminants. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, 2014; 54: 11-23. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 54, p. 11–23, 2014.
- GITERU, S. G.; ALI, M. A.; OEY, I. Recent progress in understanding fundamental interactions and applications of zein. **Food Hydrocolloids**, v. 120, n. May, p. 106948, 2021.
- GÓMEZ, M. J. et al. A new method for monitoring oestrogens , N - octylphenol , and bisphenol A in wastewater treatment plants by solid-phase extraction – gas chromatography – tandem mass spectrometry. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, v. 7319, 2007.
- GUZELLA, C. S.; SOUTO, D. E. P.; SILVA, B. J. G. Alginate-based hydrogel fiber as a restricted access material for microextraction of drugs in biological samples. **Carbohydrate Polymers**, v. 294, n. June, 2022.
- HAMPL, R.; KUBÁTOVÁ, J.; STÁRKA, L. Steroids and endocrine disruptors—History, recent state of art and open questions. **The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, v. 155, p. 217–223, 2016.
- HAN, J. H. et al. Fabrication of carboxyl functionalized microporous organic network coated stir bar for efficient extraction and analysis of phenylurea herbicides in food and water samples. **Journal of Chromatography A**, v. 1640, p. 461947, 2021.
- HASANZADEH, M.; FARHADI, K.; TAJIK, H. Zein film as a novel natural biopolymer membrane in electrochemical detections. **Journal of Solid State Electrochemistry**, v. 25, p. 1327–1337, 2021.
- HE, M. et al. Stir bar sorptive extraction and its application. **Journal of Chromatography A**, v. 1637, p. 461810, 2021.
- HITES, R. A. The Rise and Fall of Chlorpyrifos in the United States. **Environmental Science and Technology**, v. 55, n. 3, p. 1354–1358, 2 fev. 2021.
- HIZAL, J.; KANMAZ, N.; YILMAZOĞLU, M. Evaluation of humic acid embedded Chitosan/PVA composite performance in the removal of uranyl ions. **Materials Chemistry and Physics**, v. 299, 15 abr. 2023.

- HO, E. et al. Comparison of freshwater monitoring approaches: strengths , opportunities , and recommendations. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 192, n. 614, p. 1–17, 2020.
- HU, Z. et al. PVA/pectin composite hydrogels inducing osteogenesis for bone regeneration. **Materials Today Bio**, v. 16, n. 100431, 1 dez. 2022.
- HUELSMANN, R. D.; WILL, C.; CARASEK, E. Novel strategy for disposable pipette extraction (DPX): Low-cost Parallel-DPX for determination of phthalate migration from common plastic materials to saliva simulant with GC-MS. **Talanta**, v. 221, n. May 2020, p. 121443, 2021.
- HUMPHREY, S. P.; WILLIAMSON, R. T. A review of saliva: normal composition, flow and function. **Journal of prosthetic dentistry**, v. 85, n. 2, 2001.
- HUSSAIN, J. et al. Detections of organophosphate and pyrethroid insecticide metabolites in urine and sweat obtained from women during infrared sauna and exercise: A pilot crossover study. **International Journal of Hygiene and Environmental Health**, v. 248, n. September 2022, p. 114091, 2023.
- IE, B. I. X. Interactions between Oat -Glucan and Calcofluor Characterized by Spectroscopic Method. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, p. 1131–1137, 2008.
- JABLONOWSKI, N. D.; SCHÄFFER, A.; BURAUER, P. Still present after all these years: Persistence plus potential toxicity raise questions about the use of atrazine. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 18, n. 2, p. 328–331, 2011.
- JASKI, A. C. et al. Zein - a plant-based material of growing importance: New perspectives for innovative uses. **Industrial Crops and Products**, v. 186, n. February, p. 0–1, 2022.
- JONES, L. O. et al. Cryogels: Recent applications in 3D-bioprinting, injectable cryogels, drug delivery, and wound healing. **Beilstein Journal of Organic Chemistry**, v. 17, p. 2553–2569, 2021.
- KANG, H.-S. et al. Urinary concentrations of parabens and their association with demographic factors: A population-based cross-sectional study. **Environmental Research**, v. 146, p. 245–251, 2016.
- KARIA, R. et al. COVID-19 and its Modes of Transmission. **SN Comprehensive Clinical Medicine**, v. 2, n. 10, p. 1798–1801, 2020.
- KASAAI, M. R. Zein and zein -based nano-materials for food and nutrition applications: A review. **Trends in Food Science and Technology**, v. 79, p. 184–197, 1 set. 2018.
- KAWAGUCHI, M. et al. Novel stir bar sorptive extraction methods for environmental and biomedical analysis. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 40, n. 3, p. 500–508, 2006.
- KENAWY, E. R. S. et al. Novel Physically Cross-Linked Curcumin-Loaded PVA/Aloe vera Hydrogel Membranes for Acceleration of Topical Wound Healing: In Vitro and In Vivo Experiments. **Arabian Journal for Science and Engineering**, v. 48, n. 1, p. 497–514, 1 jan. 2023.
- KHATRI, M. et al. Zein nanofibers via deep eutectic solvent electrospinning: tunable morphology with super hydrophilic properties. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 1–11, 2020.
- KIM, S.; XU, J. Aggregate formation of zein and its structural inversion in aqueous ethanol. **Journal of Cereal Science**, v. 47, n. 1, p. 1–5, 2008.
- KLIMOWSKA, A. et al. Evaluation of 1-year urinary excretion of eight metabolites of synthetic pyrethroids, chlorpyrifos, and neonicotinoids. **Environment International**, v. 145, 2020.

- KOLATOROVA SOSVOROVA, L. et al. Determination of selected bisphenols, parabens and estrogens in human plasma using LC-MS/MS. **Talanta**, v. 174, n. May, p. 21–28, 2017.
- KUMAR, A.; GAUTAM, R. K.; BEHERA, C. K. Corrosion and wear behavior of Ti – 5Cu-xNb biomedical alloy in simulated body fluid for dental implant applications. **Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials**, v. 137, n. July 2022, p. 105533, 2023.
- KUMAR, A.; SOOD, A.; HAN, S. S. Poly (vinyl alcohol)-alginate as potential matrix for various applications: A focused review. **Carbohydrate Polymers**, v. 277, 1 fev. 2022.
- KUROWIAK, J. et al. Analysis of the degradation process of alginate-based hydrogels in artificial urine for use as a bioresorbable material in the treatment of urethral injuries. **Processes**, v. 8, n. 3, 2020.
- KUSHWAHA, P.; CHAUHAN, P. Facile synthesis of water-soluble Fe₃O₄ and Fe₃O₄@PVA nanoparticles for dual-contrast T1- and T2-weighted magnetic resonance imaging. **Magnetic Resonance Imaging**, v. 95, p. 50–58, 1 jan. 2023.
- L, M. E. et al. Literature review and evaluation of biomarkers , matrices and analytical methods for chemicals selected in the research program Human Biomonitoring for the European Union (HBM4EU). **Environment International**, v. 169, n. March, 2022.
- LAKIND, J. S.; AMINA WILKINS, A.; BERLIN, C. M. Environmental chemicals in human milk: A review of levels, infant exposures and health, and guidance for future research. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 198, n. 2, p. 184–208, 2004.
- LARA-ESPINOZA, C. et al. Pectin and pectin-based composite materials: Beyond food texture. **Molecules**, v. 23, n. 4, 2018.
- LEE, E. J. et al. Survival of human coronavirus 229E at different temperatures on various food-contact surfaces and food and under simulated digestive conditions. **Food Research International**, v. 162, n. PA, p. 112014, 2022.
- LESO, V. et al. Palladium nanoparticle effects on endocrine reproductive system of female rats. **Human & Experimental Toxicology**, p. 096032711875672, 2018.
- LEWIS, K. A. et al. An international database for pesticide risk assessments and management. **Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal**, v. 22, n. 4, p. 1050–1064, 2016.
- LI, J. et al. TCP structure intensified the chlorpyrifos-induced decrease in testosterone synthesis via LH-LHR-PKA-CREB-Star pathway. **Science of the Total Environment**, v. 726, n. 17, p. 138496, 2020.
- LI, J.; JIA, X.; YIN, L. Hydrogel: Diversity of Structures and Applications in Food Science. **Food Reviews International**, v. 37, n. 3, p. 313–372, 2021.
- LI, R. et al. Simultaneous determination of chlorpyrifos and 3,5,6-trichloro-2-pyridinol in duck muscle by modified QuEChERS coupled to gas chromatography tandem mass spectrometry (GC-MS/MS). **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 406, n. 12, p. 2899–2907, 2014.
- LILLO, M. A. et al. Methylparaben stimulates tumor initiating cells in ER+ breast cancer models. **Journal of Applied Toxicology**, v. 37, n. 4, p. 417–425, 2017.
- LIN, S. et al. A protein aerogel with distinctive filtration capabilities for formaldehyde and particulate pollutants. **Separation and Purification Technology**, v. 310, 1 abr. 2023.
- LIU, C. et al. Food Hydrocolloids Interaction mechanism between zein and β - lactoglobulin : Insights from multi-spectroscopy and molecular dynamics simulation methods. **Food Hydrocolloids**, v. 135, n. July 2022, p. 108226, 2023.

- LIU, Y. et al. Citrus pectin research advances: Derived as a biomaterial in the construction and applications of micro/nano-delivery systems. **Food Hydrocolloids**, v. 133, n. May, p. 107910, 2022.
- LOPES, L. C. et al. Effect of low and high methoxyl citrus pectin on the properties of polypyrrole based electroactive hydrogels. **Carbohydrate Polymers**, v. 155, p. 11–18, 2017.
- LÓPEZ-LORENTE, Á. I. et al. The ten principles of green sample preparation. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 148, n. 148, 2022.
- LORD, H.; PAWLISZYN, J. Microextraction of drugs. **Journal of Chromatography A**, v. 9673, 2001.
- LOZINNSKY, V. I. et al. Polimeric cryogels as promising materials of biotechnological interest. **Trends in Biotechnology**, v. 21, n. 10, p. 445–451, 2003.
- LOZINSKY, V. Cryostructuring of Polymeric Systems. 50.† Cryogels and Cryotropic Gel-Formation: Terms and Definitions. **Gels**, v. 4, n. 3, p. 77, 2018.
- LOZINSKY, V. I. et al. Polymeric cryogels as promising materials of biotechnological interest. **Trends in Biotechnology**, v. 21, n. 10, p. 445–451, 2003.
- LUO, Y.; WANG, Q. Zein-based micro- and nano-particles for drug and nutrient delivery: A review. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 131, n. 16, 15 ago. 2014.
- MACHADO, K. C. et al. A preliminary nationwide survey of the presence of emerging contaminants in drinking and source waters in Brazil. **Science of the Total Environment**, v. 572, p. 138–146, 2016.
- MAHDAVINIA, G. R. et al. Magnetic hydrogel beads based on PVA/sodium alginate/laponite RD and studying their BSA adsorption. **Carbohydrate Polymers**, v. 147, p. 379–391, 2016.
- MAIA, D.; DEZOTTI, M. Desreguladores endócrinos no meio ambiente: efeitos e consequências. **Química Nova**, v. 30, n. 3, p. 651–666, 2007.
- MAKKLIANG, F. et al. A polypyrrole-chitosan cryogel stir-bead micro-solid phase extractor for the determination of phthalate esters in contact lenses storage solutions and in artificial saliva in contact with baby teethers. **Analytica Chimica Acta**, v. 985, p. 69–78, 2017.
- MANOUCHEHRI, M. et al. Micro solid phase extraction of parabens from breast milk samples using Mg-Al layered double hydroxide functionalized partially reduced graphene oxide nanocomposite. **Food Chemistry**, v. 314, n. December 2019, p. 126223, 2020.
- MARTINS, R. O. et al. Miniaturized sample preparation techniques and ambient mass spectrometry as approaches for food residue analysis. **Journal of Chromatography A**, v. 1640, p. 461949, 2021.
- MARTINS, V. G.; VIEIRA COSTA, J. A.; PRENTICE, C. Water-uptake properties of a fish protein-based superabsorbent hydrogel chemically modified with ethanol. **Polímeros**, v. 28, n. 3, p. 196–204, 2018.
- MATSUSHIMA, N. et al. Three-dimensional structure of maize α -zein proteins studied by small-angle X-ray scattering. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1339, n. 1, p. 14–22, 1997.
- MENEGUZZO, F. et al. Real-scale integral valorization of waste orange peel via hydrodynamic cavitation. **Processes**, v. 7, n. 9, p. 1–24, 2019.
- MERCK, J. Z. et al. Development of poly(vinyl alcohol)-based membranes by the response surface methodology for environmental applications. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, v. 24, p. e5, 4 dez. 2020.

- MICHALKE, B. et al. Saliva as a matrix for human biomonitoring in occupational and environmental medicine. **International Archives of Occupational and Environmental Health**, v. 88, n. 1, p. 1–44, 2014.
- MOK, C. F. et al. Adsorption of Dyes Using Poly(vinyl alcohol) (PVA) and PVA-Based Polymer Composite Adsorbents: A Review. **Journal of Polymers and the Environment**, v. 28, n. 3, p. 775–793, 1 mar. 2020.
- MOREIRA, H. R. et al. Injectable pectin hydrogels produced by internal gelation: PH dependence of gelling and rheological properties. **Carbohydrate Polymers**, v. 103, n. 1, p. 339–347, 2014.
- MOSCOSO-RUIZ, I.; YOLANDA, G.; SAMANIEGO-S, C. Presence of Parabens in Different Children Biological Matrices and Its Relationship with Body Mass Index. **Nutrients**, v. 15, n. 1154, p. 1–14, 2023.
- MOSTAFALOU, S.; ABDOLLAHI, M. Pesticides and human chronic diseases: Evidences, mechanisms, and perspectives. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 268, p. 157–177, 2013.
- MUELLER-SCHOELL, A. et al. Therapeutic drug monitoring of oral targeted antineoplastic drugs. **European Journal of Clinical Pharmacology**, v. 77, p. 441–464, 2021.
- MURRELL, K. A.; DORMAN, F. L. A comparison of liquid-liquid extraction and stir bar sorptive extraction for multiclass organic contaminants in wastewater by comprehensive two-dimensional gas chromatography time of flight mass spectrometry. **Talanta**, v. 221, n. July 2020, p. 121481, 2021.
- NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. PUBCHEM DATABASE. **Atrazine**, **CID=2256**. Disponível em: <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Atrazine>>.
- NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. PUBCHEM DATABASE. **Carbaryl**, **CID=6129**. Disponível em: <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/6129>>.
- NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. PUBCHEM DATABASE. **Chlorpyrifos**, **CID=2730**. Disponível em: <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/2730>>.
- NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. PUBCHEM DATABASE. **Methylparaben**, **CID=7456**. Disponível em: <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/7456>>.
- NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. PUBCHEM DATABASE. **Phenanthrene**, **CID=995**. Disponível em: <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Phenanthrene#section=Solubility>>.
- NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. PUBCHEM DATABASE. **Ethylparaben**, **CID=8434**. Disponível em: <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/8434>>.
- NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. PUBCHEM DATABASE. **Propylparaben**, **CID=7175**. Disponível em: <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/7175>>.
- NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. PUBCHEM DATABASE. **Butylparaben**, **CID=7184**. Disponível em: <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/7184>>.
- NEEDHAM, L. L.; CALAFAT, A. M.; BARR, D. B. Uses and issues of biomonitoring. **International Journal of Hygiene and Environmental Health**, v. 210, p. 229–238, 2007.
- NEIVERTH, C. A. Otimização de extração sólido fase método para determinação de atrazina por gas cromatografia. **Ambiência**, v. 11, n. 2, p. 475–482, 2015.

- NGUYEN, T. H. et al. The selection of design methods for river water quality monitoring networks : a review. **Environmental Earth Sciences**, v. 78, n. 3, p. 1–17, 2019.
- NOGUEIRA, J. M. F. Stir-bar sorptive extraction: 15 years making sample preparation. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 71, p. 214–223, 2015.
- NOWAK, K. et al. Parabens and their effects on the endocrine system. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 474, p. 238–251, 15 out. 2018.
- NURERK, P. et al. A dumbbell-shaped stir bar made from poly (3,4-ethylene dioxythiophene) -coated porous cryogel incorporating metal organic frameworks for the extraction of synthetic phenolic antioxidants in foodstuffs. **Journal of Chromatography A**, v. 1655, p. 462497, 2021.
- OCAÑA-GONZÁLEZ, J. A. et al. New developments in the extraction and determination of parabens in cosmetics and environmental samples. A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 858, n. 1, p. 1–15, 2015.
- OH, G. W. et al. Preparation and properties of physically cross-linked PVA/pectin hydrogels blended at different ratios for wound dressings. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 139, n. 9, 5 mar. 2022.
- OSADA, Y.; GONG, J.-P. Soft and Wet Materials: Polymer Gels. **Advanced Materials**, p. 827–837, 1998.
- OYANE, A. et al. Sol — gel modification of silicone to induce apatite-forming ability. **Biomaterials**, v. 20, p. 79–84, 1999.
- PALIWAL, R.; PALAKURTHI, S. Zein in controlled drug delivery and tissue engineering. **Journal of Controlled Release**, v. 189, p. 108–122, 10 set. 2014.
- PALLA, G. et al. Immunosensor incorporating half-antibody fragment for electrochemical monitoring of amyloid- β fibrils in artificial blood plasma. **Bioelectrochemistry**, v. 137, p. 107643, 2021.
- PAN, J. et al. Review of online coupling of sample preparation techniques with liquid chromatography. **Analytica Chimica Acta**, v. 815, p. 1–15, 2014.
- PAPANCEA, A.; PATACHIA, S.; DOBRITOIU, R. Crystal violet dye sorption and transport in / through biobased PVA cryogel membranes. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 41838, 2015.
- PASUPULETI, R. R.; TSAI, P. C.; PONNUSAMY, V. K. Low-cost disposable Poly(ethyleneimine)-Functionalized Carbon Nanofibers Coated Cellulose Paper as efficient solid phase extraction sorbent material for the extraction of Parahydroxybenzoates from environmental waters. **Chemosphere**, v. 267, n. 100, p. 129274, 2021.
- PATEL, P. K.; PANDEY, L. M.; UPPALURI, R. V. S. Adsorptive removal of Zn, Fe, and Pb from Zn dominant simulated industrial wastewater solution using polyvinyl alcohol grafted chitosan variant resins. **Chemical Engineering Journal**, v. 459, 1 mar. 2023.
- PEDERSEN, T. L. et al. Quantification of Nonpersistent Pesticides in Small Volumes of Human Breast Milk with Ultrahigh Performance Liquid Chromatography Coupled to Tandem Mass Spectrometry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 69, n. 23, p. 6676–6689, 2021.
- PENG, G. et al. Determination of 3,5,6-trichloro-2-pyridinol, phoxim and chlorpyrifos-methyl in water samples using a new pretreatment method coupled with high-performance liquid chromatography. **Journal of Separation Science**, v. 38, n. 24, p. 4204–4210, 2015.
- PIAO, C.; CHEN, L.; WANG, Y. A review of the extraction and chromatographic determination methods for the analysis of parabens. **Journal of Chromatography B**, v. 969, p. 139–148, 2014.

- PIRES, D. X.; CALDAS, E. D.; RECENA, M. C. P. Uso de agrotóxicos e suicídios no Estado do Mato Grosso do Sul, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 21, n. 2, p. 598–605, 2005.
- PISTONE, S. et al. Formulation of polysaccharide-based nanoparticles for local administration into the oral cavity. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 96, p. 381–389, 1 jan. 2017.
- PLLEVA, F. M.; GALAEV, I. Y.; MATTIASSON, B. Macroporous gels prepared at subzero temperatures as novel materials for chromatography of particulate-containing fluids and cell culture applications. **Journal of Separation Science**, v. 30, n. 11, p. 1657–1671, 2007.
- PRIETO, A. et al. Stir-bar sorptive extraction: A view on method optimisation, novel applications, limitations and potential solutions. **Journal of Chromatography A**, v. 1217, n. 16, p. 2642–2666, 2010.
- PYTKO-POLONCZYK, J. et al. Artificial saliva and its use in biological experiments. **Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 68, n. 6, p. 807–813, 2017.
- QUINTERO, S. M. M. et al. Swelling and morphological properties of poly(vinyl alcohol) (PVA) and poly(acrylic acid) (PAA) hydrogels in solution with high salt concentration. **Polymer**, v. 51, n. 4, p. 953–958, 2010.
- RAHMAH, A. U. Experimental investigation on the effect of wastewater matrix on oxytetracycline mineralization using UV / H₂O₂ system. **International Journal of Environmental Science and Technology**, v. 14, n. 6, p. 1225–1233, 2017.
- RANDALL, D. G.; NAIDOO, V. Urine: The liquid gold of wastewater. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 6, n. 2, p. 2627–2635, 2018.
- RASYIDA, A. et al. A Composite of Hydrogel Alginate/PVA/r-GO for Scaffold Applications with Enhanced Degradation and Biocompatibility Properties. **Polymers**, v. 15, n. 3, 1 fev. 2023.
- RATTANAKUNSONG, N. et al. A hierarchical porous composite magnetic sorbent of reduced graphene oxide embedded in polyvinyl alcohol cryogel for solvent-assisted-solid phase extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons. **Journal of Separation Science**, 31 mar. 2022.
- RAZA, N. et al. Recent developments in analytical quantitation approaches for parabens in human-associated samples. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 98, p. 161–173, 2018.
- REGUEIRO, J. et al. Trace analysis of parabens, triclosan and related chlorophenols in water by headspace solid-phase microextraction with in situ derivatization and gas chromatography-tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1216, n. 23, p. 4693–4702, 2009.
- REICHERT, G. et al. Determination of Parabens, Triclosan, and Lipid Regulators in a Subtropical Urban River: Effects of Urban Occupation. **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 231, n. 3, 2020.
- R.E.MAJORS. Overview of Sample Preparation. **LCGC**, v. 9, n. 1, p. 16–21, 1991.
- RICHARDSON, S. D.; KIMURA, S. Y. Water analysis: Emerging contaminants and current issues. **Analytical Chemistry**, v. 92, n. 1, p. 473–505, 2020.
- RODRÍGUEZ-GÓMEZ, R. et al. Stir-membrane solid – liquid – liquid microextraction for the determination of parabens in human breast milk samples by ultra high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1354, p. 26–33, 2014.
- RODRÍGUEZ-RODRÍGUEZ, R. et al. Composite hydrogels based on gelatin , chitosan and polyvinyl alcohol to biomedical applications : a review. **International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials**, v. 69, n. 1, p. 1–20, 2020.

- ROGOVINA, L. Z.; VASIL'EV, V. G.; BRAUDO, E. E. Definition of the concept of polymer gel. **Polymer Science - Series C**, v. 50, n. 1, p. 85–92, 2008.
- ROSE, C. et al. The characterization of feces and urine: A review of the literature to inform advanced treatment technology. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v. 45, n. 17, p. 1827–1879, 2015.
- SAHOO, D. R.; BISWAL, T. Alginate and its application to tissue engineering. **SN Applied Sciences**, v. 3, n. 1, 1 jan. 2021.
- SAMPAIO, N. M. F. M. et al. Evaluation of polyvinyl alcohol/pectin-based hydrogel disks as extraction phase for determination of steroidal hormones in aqueous samples by GC-MS/MS. **Molecules**, v. 24, n. 1, 2019.
- SAMPAIO, N. M. F. M. et al. Polyvinyl alcohol - based hydrogel sorbent for extraction of parabens in human milk samples by in - tube SPME – LC – UV. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, n. 0123456789, 2022.
- SANCHEZ-BALLESTER, N. M.; BATAILLE, B.; SOULAIROL, I. Sodium alginate and alginic acid as pharmaceutical excipients for tablet formulation: Structure-function relationship. **Carbohydrate Polymers**, v. 270, n. July, p. 118399, 2021.
- SÁNCHEZ-ROJAS, F.; BOSCH-OJEDA, C.; CANO-PAVÓN, J. M. A Review of Stir Bar Sorptive Extraction. **Chromatographia**, v. 69, n. S1, p. 79–94, 2009.
- SANEPAR. **Resultado da análise da água de Curitiba - Companhia de Saneamento do Paraná**. Disponível em: <<https://site.sanepar.com.br/conteudo/analise-da-qualidade-da-agua>>. Acesso em: 15 abr. 2023.
- SAPUŁA, P.; BIALIK-WĄS, K.; MALARZ, K. Are Natural Compounds a Promising Alternative to Synthetic Cross-Linking Agents in the Preparation of Hydrogels? **Pharmaceutics**, v. 15, n. 1, 1 jan. 2023.
- SARIGUL, N.; KORKMAZ, F.; KURULTAK, İ. A New Artificial Urine Protocol to Better Imitate Human Urine. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 1–11, 2019.
- SARKHEL, R. et al. Synthesis of biodegradable PVA/cellulose polymer composites and their application in dye removal. **Environmental Quality Management**, 1 mar. 2022.
- SAXENA, J. et al. Physicochemical properties and surface composition of infant formula powders. **Food Chemistry**, v. 297, 1 nov. 2019.
- SEGURA, J.; VENTURA, R.; JURADO, C. Derivatization procedures for gas chromatographic-mass spectrometric determination of xenobiotics in biological samples, with special attention to drugs of abuse and doping agents. **Journal of Chromatography B: Biomedical Applications**, v. 713, n. 1, p. 61–90, 1998.
- SELLIMI, S. et al. Structural, physicochemical and antioxidant properties of sodium alginate isolated from a Tunisian brown seaweed. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 72, p. 1358–1367, 1 jan. 2015.
- SHAIKH, H. et al. Synthesis and characterization of molecularly imprinted polymer embedded composite cryogel discs: application for the selective extraction of cypermethrins from aqueous samples prior to GC-MS analysis. **RSC Advances**, v. 5, n. 34, p. 26604–26615, 2015.
- SHARMIN, N. et al. Effect of citric acid and plasma activated water on the functional properties of sodium alginate for potential food packaging applications. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 29, 1 set. 2021.
- SHEMER, H.; SHARPLESS, C. M.; LINDEN, K. G. Photodegradation of 3,5,6-trichloro-2-pyridinol in aqueous solution. **Water, Air and Soil Pollution**, v. 168, p. 145–155, 2005.
- SHIMAZU, K. et al. Influence of artificial saliva contamination on adhesion in class V restorations. **Dental Materials Journal**, v. 39, n. 3, p. 429–434, 2020.

- SILINS, I.; HÖ, J. Combined Toxic Exposures and Human Health : Biomarkers of Exposure and Effect. **International Journal of Environment Research and Public Health**, v. 8, p. 629–647, 2011.
- SMITH, J. N. et al. Pharmacokinetics of the chlorpyrifos metabolite 3,5,6-trichloro-2-pyridinol (TCPy) in rat saliva. **Toxicological Sciences**, v. 113, n. 2, p. 315–325, 2009.
- SMITH, R. M. Before the injection — modern methods of sample preparation for separation techniques. **Journal of Chromatography A**, v. 1000, p. 3–27, 2003.
- SMITHER, S. J. et al. Experimental aerosol survival of SARS-CoV-2 in artificial saliva and tissue culture media at medium and high humidity. **Emerging Microbes and Infections**, v. 9, n. 1, p. 1415–1417, 2020.
- SONG, X.; HUANG, X. Recent developments in microextraction techniques for detection and speciation of heavy metals. **Advances in Sample Preparation**, v. 2, n. April, p. 100019, 2022.
- SONI, M. G.; CARABIN, I. G.; BURDOCK, G. A. Safety assessment of esters of p-hydroxybenzoic acid (parabens). **Food and Chemical Toxicology**, v. 43, n. 7, p. 985–1015, 2005.
- SORRIBES-SORIANO, A. et al. Molecularly imprinted polymer – stir bar sorptive extraction of diazepam from natural water. **Microchemical Journal**, v. 186, n. September 2022, 2023.
- SOUZA-SILVA, É. A. et al. A critical review of the state of the art of solid-phase microextraction of complex matrices I . Environmental analysis. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 71, p. 224–235, 2015.
- SUAREZ-LOPEZ, J. R. et al. Associations of acetylcholinesterase activity with depression and anxiety symptoms among adolescents growing up near pesticide spray sites. **International Journal of Hygiene and Environmental Health**, n. May, 2019.
- TAMAYO-ORTIZ, M. et al. A Call for Biomonitoring Systems in Latin America and the Caribbean : Considerations for Potentially Toxic Metals / Metalloids. **Annals of Global Health**, v. 88, n. 1, p. 1–11, 2022.
- TANG, K. et al. Chemometric analysis of Chinese red wines using stir bar sorptive extraction combined with GC – MS analysis. **European Food Research and Technology**, v. 246, n. 1, p. 55–67, 2020.
- TARAZONA, J. V et al. Improving the Risk Assessment of Pesticides through the Integration of Human Biomonitoring and Food Monitoring Data : A Case Study for Chlorpyrifos. **Toxics**, v. 313, n. 10, p. 1–16, 2022.
- TEODORESCU, M.; MORARIU, S. Drug delivery system based on PVA and clay for potential treatment of COVID-19. **Journal of Polymer Research**, v. 29, n. 2, 1 fev. 2022.
- THAKUR, S. et al. Novel Synergistic Approach: Tazarotene-Calcipotriol-Loaded-PVA/PVP-Nanofibers Incorporated in Hydrogel Film for Management and Treatment of Psoriasis. **Molecular Pharmaceutics**, v. 20, n. 2, p. 997–1014, 6 fev. 2023.
- TORTORELLA, S. et al. Zein as a versatile biopolymer: different shapes for different biomedical applications. **RSC Advances**, v. 11, n. 62, p. 39004–39026, 6 dez. 2021.
- ULLAH, N.; TUZEN, M. A New Trend and Future Perspectives of the Miniaturization of Conventional Extraction Methods for Elemental Analysis in Different Real Samples: A Review. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, v. 0, n. 0, p. 1–19, 2022.
- ULRICH, S.; MARTENS, J. Solid-phase microextraction with capillary gas-liquid chromatography and nitrogen-phosphorus selective detection for the assay of

antidepressant drugs in human plasma. **Journal of Chromatography B**, v. 696, p. 217–234, 1997.

VÁLLEZ-GOMIS, V. et al. Fundamentals and applications of stir bar sorptive dispersive microextraction: A tutorial review. **Analytica Chimica Acta**, v. 1153, 2021.

VASUDEVAN, D.; DORLEY, P. J.; ZHUANG, X. Adsorption of hydroxy pyridines and quinolines at the metal oxide-water interface: Role of tautomeric equilibrium. **Environmental Science and Technology**, v. 35, n. 10, p. 2006–2013, 15 maio 2001.

VATANPOUR, V. et al. Polyvinyl alcohol-based separation membranes: a comprehensive review on fabrication techniques, applications and future prospective. **Materials Today Chemistry**, v. 28, 1 mar. 2023.

VELA-SORIA, F. et al. Simplified matrix solid phase dispersion procedure for the determination of parabens and benzophenone-ultraviolet filters in human placental tissue samples. **Journal of Chromatography A**, v. 1371, p. 39–47, 2014.

VELA-SORIA, F. et al. Assessment of parabens and ultraviolet filters in human placenta tissue by ultrasound-assisted extraction and ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1487, p. 153–161, 2017.

VIJAYAN, V. M.; VASUDEVAN, P. N.; THOMAS, V. Polymeric Nanogels for Theranostic Applications: A Mini-Review. **Current Nanoscience**, v. 16, n. 3, p. 392–398, 23 jul. 2019.

VU, T. H. VAN; LIM, H. H.; SHIN, H. S. Determination of 15 Biomarkers of Endocrine Disrupting Chemicals in Human Saliva by Gas Chromatography–Mass Spectrometry. **Bulletin of the Korean Chemical Society**, v. 41, n. 4, p. 424–432, 2020.

WANG, M. et al. Poly(vinyl alcohol) Hydrogels: The Old and New Functional Materials. **International Journal of Polymer Science**, v. 2021, 2021.

WANG, R. et al. Pectin-based adsorbents for heavy metal ions: A review. **Trends in Food Science and Technology**, v. 91, p. 319–329, 1 set. 2019.

WANG, Y. et al. In vitro degradation behavior of M1A magnesium alloy in protein-containing simulated body fluid. **Materials Science & Engineering C**, v. 31, n. 3, p. 579–587, 2011.

WEEBER, R. et al. Polymer architecture of magnetic gels: A review. **Journal of Physics Condensed Matter**, v. 30, n. 6, 19 jan. 2018.

WHO. **Pesticides**. Disponível em: <<http://www.who.int/topics/pesticides/en/>>.

WILL, C. et al. Expanding the applicability of magnetic ionic liquids for multiclass determination in biological matrices based on dispersive liquid–liquid microextraction and HPLC with diode array detector analysis. **Journal of Separation Science**, v. 43, n. 13, p. 2657–2665, 2020.

WILLATS, W. G. T.; KNOX, J. P.; MIKKELSEN, J. D. Pectin: New insights into an old polymer are starting to gel. **Trends in Food Science and Technology**, v. 17, n. 3, p. 97–104, 2006.

WU, H. et al. Suicide and suicidality in people exposed to pesticides : A systematic review. **Environmental Pollution**, v. 327, n. March, p. 121542, 2023.

WUSIGALE; LIANG, L.; LUO, Y. Casein and pectin: Structures, interactions, and applications. **Trends in Food Science and Technology**, v. 97, p. 391–403, 1 mar. 2020.

XIONG, J. et al. Dispersive solid phase extraction coupled with HPLC-UV for simultaneous determination of chlorpyrifos and 3,5,6-trichloro-2-pyridinol in soil samples. **Analytical Methods**, v. 5, n. 2, p. 536–540, 21 jan. 2013.

- YANG, D. et al. Characterization of silver nanoparticles loaded chitosan/polyvinyl alcohol antibacterial films for food packaging. **Food Hydrocolloids**, v. 136, 1 mar. 2023.
- YOKOYAMA, F. et al. Morphology and structure of highly elastic poly(vinyl alcohol) hydrogel prepared by repeated freezing-and-melting. **Colloid & Polymer Science**, v. 264, n. 7, p. 595–601, 1986.
- YU, X. et al. Hydrophobic cross-linked zein-based nanofibers with efficient air filtration and improved moisture stability. **Chemical Engineering Journal**, v. 396, n. May, 2020.
- YUAN, D. et al. Recent advances in the application of zein-based gels: A review. **European Polymer Journal**, v. 179, n. August, p. 111557, 2022.
- YUAN, G. et al. A simple and economical method of gas chromatography-mass spectrometry to determine the presence of 6 pesticides in human plasma and its clinical application in patients with acute poisoning. **BioScience Trends**, v. 12, n. 2, p. 201–207, 2018.
- YUAN, Y. et al. Fabrication and characterization of zein nanoparticles by dextran sulfate coating as vehicles for delivery of curcumin. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 151, p. 1074–1083, 2020.
- YUSA, V. et al. Analytical methods for human biomonitoring of pesticides : A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 632, p. 168–180, 2009.
- ZENGİN, A. Molecularly-imprinted silica nanoparticles for rapid and selective detection of atenolol in artificial urine samples. **MANAS Journal of Engineering**, v. 9, n. 1, p. 43–48, 2021.
- ZHANG, K. et al. Spatial Distribution and Sources of Organic Matter in the Surface Sediments of Fuxian Lake, SW China. **Water**, v. 15, n. 794, p. 1–13, 2023.
- ZHANG, Q. et al. Reduced graphene oxide coated nickel foam for stir bar sorptive extraction of benzotriazole ultraviolet absorbents from environmental water. **Talanta**, v. 231, n. April, p. 122332, 2021a.
- ZHANG, X. et al. Zein as a structural protein in gluten-free systems: an overview. **Food Science and Human Wellness**, v. 10, n. 3, p. 270–277, 2021b.
- ZOU, Z. et al. A sodium alginate-based sustained-release IPN hydrogel and its applications. **RSC Advances**, v. 10, n. 65, p. 39722–39730, 30 out. 2020.