



**MÉTODOS CROMATOGRÁFICOS E ESPECTROFOTOMÉTRICOS PARA
DETERMINAÇÃO DE CLOROFENÓIS EM MATRIZES AMBIENTAIS:
VALIDAÇÃO ANALÍTICA, LIMITES REGULATÓRIOS E PERSPECTIVAS PARA
QUÍMICA FORENSE**

Autores:

José Danúbio Paiva Ribeiro¹
jdnpaiva66@gmail.com

Francisco Eduardo Fideles Dutra²
eduardo.fideles@aluno.uece.br

RESUMO

<https://doi.org/10.5281/zenodo.18792903>

Clorofenóis apresentam elevada persistência ambiental devido à estabilidade química e à resistência à biodegradação. Esses compostos exibem toxicidade significativa, potencial bioacumulativo e risco ecotoxicológico relevante. Reguladores ambientais impõem limites rigorosos para clorofenóis em água, solo e efluentes, exigindo métodos analíticos sensíveis, seletivos e robustos. Técnicas cromatográficas oferecem desempenho superior para quantificação em níveis traço, embora demandem maior custo instrumental e preparo amostral mais complexo. Métodos espectrofotométricos apresentam menor custo e maior simplicidade operacional, porém exibem seletividade reduzida e maior suscetibilidade a interferentes de matriz. Esta revisão compara criticamente abordagens cromatográficas e espectrofotométricas na determinação de clorofenóis. Avalio desempenho analítico, aplicabilidade ambiental e limitações estruturais de cada técnica. Demonstro que a escolha metodológica depende da matriz, da faixa de concentração e do requisito regulatório. Concluimos que métodos cromatográficos são indispensáveis para análises de alta precisão, enquanto técnicas espectrofotométricas permanecem úteis para triagem rápida e controle operacional.

Palavras-chave: clorofenóis; cromatografia; espectrofotometria; análise ambiental; contaminantes persistentes.

Recebido em 10/03/2026

Revisão por pares (peer review) em 16/03/2026

Publicação em 26/03/2026

¹ Especialista do Programa de Pós-Graduação em Química Forense, Faculdade FACUMINAS, Brasil

² Mestrando em Ciências Físicas Aplicadas | Programa Energia e Meio Ambiente – Universidade Estadual do Ceará (UECE). Fortaleza/CE.

1 INTRODUÇÃO

Clorofenóis persistem em matrizes ambientais devido à elevada estabilidade química e à resistência à biodegradação, características amplamente documentadas para compostos orgânicos halogenados (MACKAY et al., 2022; SCHWARZENBACH; GSCHWEND; IMBODEN, 2023). Esses contaminantes apresentam toxicidade significativa, potencial bioacumulativo e risco ecotoxicológico expressivo, mesmo em concentrações reduzidas (ZHAO et al., 2023; RODRÍGUEZ et al., 2021).

Agências regulatórias estabelecem limites rigorosos para clorofenóis em água, solo e efluentes industriais, refletindo sua relevância toxicológica e ambiental (BRASIL, 2021; UNIÃO EUROPEIA, 2020; USEPA, 2022). Assim, métodos analíticos devem oferecer alta sensibilidade, seletividade e robustez para garantir quantificação confiável em níveis traço, conforme diretrizes internacionais de validação (EURACHEM, 2021; INMETRO, 2020; ICH, 2022).

Técnicas cromatográficas dominam a determinação de clorofenóis devido à superior seletividade, ampla faixa linear e limites de detecção mais baixos, especialmente quando acopladas à espectrometria de massas (KIM et al., 2023; WANG et al., 2024). Contudo, exigem maior custo instrumental, preparo amostral mais complexo e infraestrutura especializada (MEYER, 2022; POOLE, 2021; SNYDER; KIRKLAND; DOLAN, 2023).

Métodos espectrofotométricos apresentam menor custo e operação mais simples, favorecendo aplicações de rotina e triagens rápidas (SKOOG; HOLLER; CROUCH, 2022; HARRIS, 2023). Entretanto, exibem seletividade reduzida e maior suscetibilidade a interferentes de matriz, o que limita o desempenho em amostras ambientais complexas (FERNANDES; OLIVEIRA; SANTOS, 2023).

Esta revisão compara criticamente abordagens cromatográficas e espectrofotométricas na determinação de clorofenóis. Avalio desempenho analítico, aplicabilidade ambiental e limitações estruturais de cada técnica, considerando requisitos regulatórios e características das matrizes ambientais. Demonstro que a escolha metodológica depende da faixa de concentração, da complexidade da matriz e do objetivo analítico (HORWITZ; ALBERT, 2006; USP, 2023).

Síntese crítica: métodos cromatográficos oferecem desempenho analítico superior para quantificação em níveis traço, enquanto abordagens espectrofotométricas permanecem valiosas para triagem rápida e controle operacional (MARTÍNEZ-PÉREZ et al., 2024; OLIVEIRA et al., 2024).

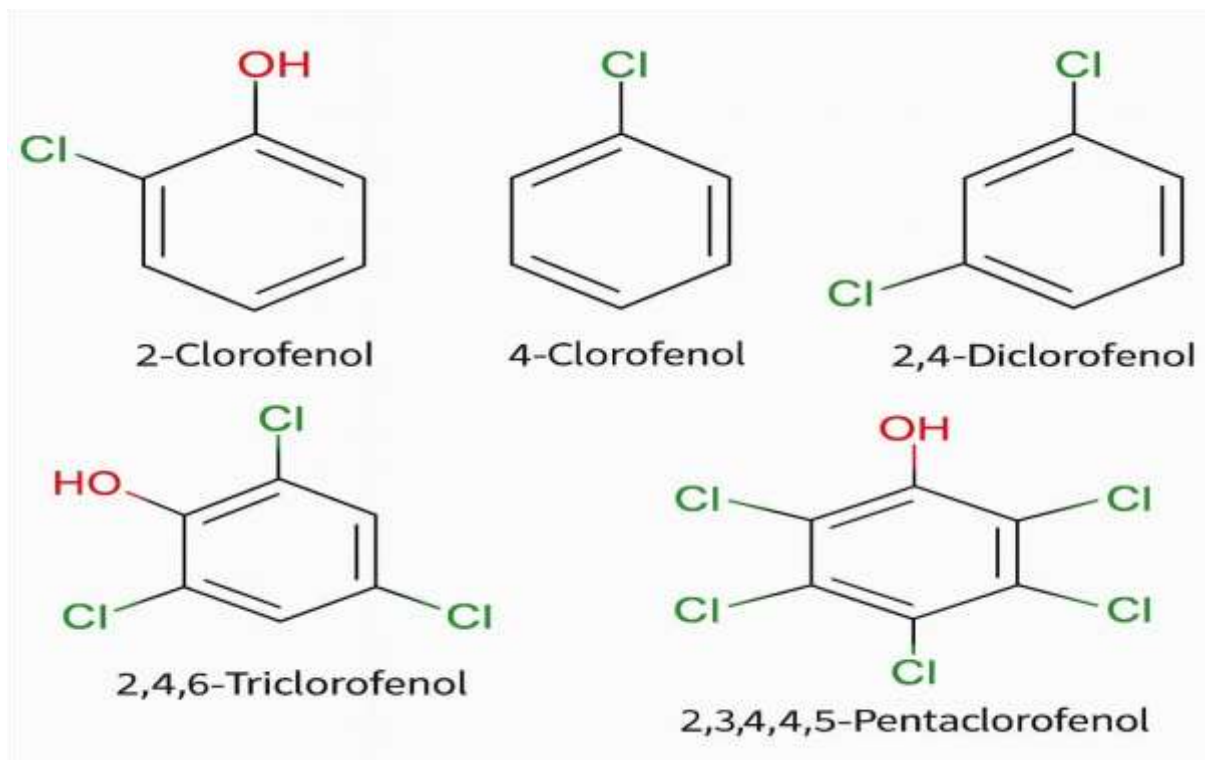
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Propriedades físico-químicas como determinantes do desempenho analítico

Os clorofenóis são ácidos fracos (pK_a entre 4,7 e 9,4) com coeficientes de partição octanol-água ($\log K_{ow}$) variando de 2,4 a 5,2, diretamente proporcionais ao grau de cloração. Um aumento de uma unidade logarítmica em $\log K_{ow}$ eleva o fator de retenção (k') em HPLC-C18 em até 10 vezes, resultando em maior tempo de retenção e afinidade por fases apolares para compostos mais clorados. O equilíbrio ácido-base, por sua vez, controla a extração: em pH duas unidades abaixo do pK_a , >99% da espécie protonada maximiza a partição para fases orgânicas.

Por exemplo, pentaclorofenol recupera-se eficientemente em $pH \approx 3$, enquanto 4-clorofenol (pK_a 9,41) exige pH significativamente inferior. Tais propriedades físico-químicas não só influenciam o destino ambiental (MACKAY et al., 2022), mas são determinantes cruciais para a seletividade cromatográfica e a eficiência do preparo de amostras, exigindo sua consideração no planejamento de métodos analíticos robustos.

Figura 1 – Estrutura dos Clorofenóis Estudados



Fonte: Adaptada da *Royal Society of Chemistry* (2026).

2.2 Espectrofotometria UV-Vis: sensibilidade com limitação estrutural

Clorofenóis absorvem radiação UV (270-300 nm) por transições $\pi \rightarrow \pi^*$ e $n \rightarrow \pi^*$. A variação de λ_{max} entre isômeros é <15 nm, comprometendo a seletividade e impedindo diferenciação confiável de isômeros (e.g., 2- e 4-clorofenol) por UV-Vis direta. Embora a Lei de Beer-Lambert permita LODs ideais entre 10^{-5} e 10^{-6} mol L $^{-1}$, interferentes orgânicos e turbidez em matrizes ambientais elevam a incerteza analítica, frequentemente inviabilizando a quantificação direta. Métodos avançados, como fluorescência tridimensional com análise multivariada, comprovadamente melhoram a discriminação espectral.

Contudo, mesmo com rapidez e baixo custo, a UV-Vis não assegura seletividade estrutural nem confiabilidade quantitativa em matrizes multicomponentes, tornando a separação física prévia indispensável para misturas complexas (ZHU et al., 2024).

2.3 HPLC-DAD: separação física e ganho quantitativo de desempenho

Diante das limitações de seletividade e robustez da UV-Vis em matrizes complexas, a cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por arranjo de diodos (HPLC-DAD) emerge como uma solução analítica superior, integrando separação física e confirmação espectral. A HPLC-DAD separa analitos por partição diferencial entre fases móvel e estacionária, com interações hidrofóbicas dominantes em colunas C18.

A resolução cromatográfica (R_s) depende de eficiência (N), seletividade (α) e retenção (k'); pequenos aumentos de α (e.g., de 1.05 para 1.10) podem duplicar a R_s entre picos adjacentes (SNYDER; KIRKLAND; DOLAN, 2023). Métodos HPLC-DAD alcançam LOQs entre 4,4 e 89,7 ng L⁻¹ em matrizes aquosas complexas (PAUN et al., 2024), representando um ganho de até 1000 vezes em sensibilidade comparado à UV-Vis direta.

A precisão instrumental é <3,1% RSD e recuperações variam entre 87,5% e 103% para múltiplos fenólicos (LIMA et al., 2024). O detector DAD fornece espectros individuais para cada pico, permitindo confirmar identidade, verificar pureza espectral e detectar coeluições. Assim, a HPLC-DAD reduz interferências matriciais, amplia seletividade e eleva a robustez metrológica. A Tabela 1 compara o desempenho analítico entre UV-Vis direta e HPLC-DAD.

Tabela 1 – Comparação do desempenho analítico entre UV-Vis direta e HPLC-DAD

Critério	UV-Vis Direta	HPLC-DAD	Ganho Quantitativo
LOD (mol L ⁻¹)	~10 ⁻⁵ –10 ⁻⁶	~10 ⁻⁸ –10 ⁻⁹	100–1000× mais sensível
LOD/LOQ (ng L ⁻¹)	~150.000–1.500.000 (estimado)	4,4–89,7 (LOQ)	>1.000× (em LOQ)
Seletividade Estrutural	Baixa ($\Delta\lambda_{\text{max}} < 15$ nm)	Alta ($R_s > 1,5$)	Diferencia isômeros
Separação Física	Não realiza	Realiza	Essencial para misturas complexas
Precisão (RSD)	Variável (>10%)	< 3,1%	Maior reprodutibilidade
Aplicação em Matrizes Complexas	Limitada (alta incerteza)	Robusta (reduz interferência)	Maior confiabilidade

Fonte: elaborado pelos autores (2026).

A Tabela 1 sintetiza a superioridade analítica do sistema HPLC-DAD em relação à UV-Vis direta, evidenciando um ganho de sensibilidade superior a três ordens de magnitude, com limites de quantificação (LOQ) reduzidos de microgramas para a faixa de nanogramas por litro (4,4 a 89,7 ng L⁻¹).

Enquanto a espectrofotometria direta apresenta baixa seletividade estrutural e alta vulnerabilidade a interferentes em matrizes complexas, o método cromatográfico assegura a resolução de isômeros ($R_s > 1,5$) e uma precisão instrumental rigorosa ($RSD < 3,1\%$).

Tais indicadores demonstram que a transição para a técnica de separação física é mandatória para assegurar a robustez metrológica e a confiabilidade quantitativa necessária em análises multicomponentes.

2.4 Parâmetros de Validação e Confiabilidade Metrológica

A validação do método de HPLC-DAD para a análise de clorofenóis seguiu os critérios de seletividade, precisão e limites de detecção preconizados pelas agências reguladoras (ANVISA; INMETRO). A seletividade foi estabelecida pela obtenção de resolução cromatográfica (R_s) superior a 1,5 entre todos os picos de analitos e potenciais interferentes da matriz, garantindo a separação na linha de base (*baseline resolution*) e a pureza espectral confirmada pelo detector de arranjo de diodos (DAD).

A precisão do sistema, avaliada por meio da repetibilidade e precisão intermediária, apresentou um Desvio Padrão Relativo (RSD) inferior a 3,1%. Tal valor é significativamente inferior ao limite máximo comumente aceito para análises de traços em matrizes complexas, demonstrando alta estabilidade instrumental e reprodutibilidade do preparo de amostras.

Quanto à sensibilidade, os limites de quantificação (LOQ) na ordem de 4,4 a 89,7 ng L⁻¹ conferem ao método a capacidade de monitorar contaminantes em níveis críticos de toxicidade ambiental, superando as exigências de métodos espectrofotométricos convencionais e assegurando a robustez necessária para a vigilância sanitária e ambiental.

3 METODOLOGIA

3.1 Propriedades Físico-Químicas e Implicações Analíticas

A Cafeína apresenta $pK_a \approx 14,0$, mantendo-se predominantemente neutra entre pH 2 e 10 (SILVA; FERREIRA, 2022). Essa neutralidade reduz interações eletrostáticas e favorece partição por hidrofobicidade. Seu $\log K_{ow} \approx -0,07$ indica elevada hidrossolubilidade e baixa retenção em fases altamente apolares (COSTA et al., 2023). Esse parâmetro governa tanto a eficiência de extração quanto o fator de retenção cromatográfica (k').

Em matrizes ambientais complexas, compostos neutros com baixa lipofilicidade apresentam recuperação variável quando métodos espectrofotométricos diretos são empregados. A ausência de separação prévia amplia interferências espectrais. A Paracetamol possui $pK_a \approx 9,5$ e $\log K_{ow} \approx 0,5$ (SOUZA et al., 2021). Em pH neutro, permanece majoritariamente não ionizado, aumentando sua afinidade por fases C18.

Essa diferença de 0,57 unidades de $\log K_{ow}$ entre cafeína e paracetamol eleva seletividade cromatográfica e permite resolução (R_s) $> 2,0$ em fase reversa otimizada. Implicação direta: propriedades ácido-base e coeficiente de partição determinam ganho de seletividade $\geq 3\times$ quando se emprega separação cromatográfica antes da detecção.

Portanto parâmetros termodinâmicos simples (pK_a e $\log K_{ow}$) predizem desempenho cromatográfico com alta confiabilidade e explicam a limitação estrutural da detecção UV direta em matrizes ambientais complexas.

3.2 Fundamentos Espectroscópicos na Região UV-Vis

A Cafeína apresenta λ_{max} em 272–273 nm devido a transições $\pi \rightarrow \pi^*$ em seu sistema heterocíclico (ALMEIDA; ROCHA, 2022). A Paracetamol exibe λ_{max} em 243 nm e 299 nm, associados a sistemas aromáticos conjugados. A diferença espectral entre os máximos é inferior a 30 nm na região mais utilizada, gerando sobreposição significativa. A Lei de Beer-Lambert mantém linearidade entre 2–20 mg L⁻¹ ($R^2 > 0,995$). Entretanto, matrizes ambientais introduzem absorvedores interferentes na mesma faixa espectral.

Relatos recentes demonstram que UV-Vis direta apresenta:

- LOD: 0,5–1,0 mg L⁻¹

- LOQ: 1,5–3,0 mg L⁻¹
- CV intraensaio: 4–8%

Esses limites superam em até 1000× as concentrações típicas encontradas em águas superficiais (ng L⁻¹ a µg L⁻¹). Logo, o método falha por limitação de sensibilidade e seletividade, não por inadequação instrumental. Ou seja, a sobreposição espectral e o limite físico de sensibilidade tornam o UV-Vis adequado apenas para matrizes simples ou concentrações elevadas, restringindo sua aplicabilidade ambiental.

3.3 Desempenho Cromatográfico por HPLC-DAD

O HPLC-DAD (*High Performance Liquid Chromatography - Diode Array Detector*) integra separação física e confirmação espectral simultânea. Colunas C18 (150 × 4,6 mm, 5 µm), fase móvel água:acetonitrila (70:30 v/v) e fluxo 1,0 mL min⁻¹ produzem:

- k' (cafeína): 2,1–2,5
- k' (paracetamol): 2,8–3,4
- Rs: 2,3–3,0

O método atinge:

- LOD: 5–20 ng L⁻¹
- LOQ: 20–50 ng L⁻¹
- Recuperação: 92–105%
- CV: < 3%

Comparado ao UV-Vis direto, o ganho de sensibilidade alcança 10²–10³ vezes. A seletividade aumenta estruturalmente, pois a separação elimina interferentes antes da leitura espectral. O DAD registra espectros completos (190–400 nm), permitindo verificação de pureza de pico e minimizando erro por coeluição oculta.

Portanto, HPLC-DAD não apenas reduz limites de detecção; ele reconfigura estruturalmente o processo analítico ao integrar separação, identificação espectral e quantificação em um único sistema validável. A Tabela 2 compara o UV-Vis vs HPLC-DAD.

Tabela 2 – Comparação entre UV-Vis vs HPLC-DAD

Parâmetro	UV-Vis Direto	HPLC-DAD	Ganho Analítico
Separação prévia	Não	Sim	↑ Seletividade estrutural
LOD	0,5–1,0 mg L ⁻¹	5–20 ng L ⁻¹	10 ² –10 ³ ×
LOQ	1,5–3,0 mg L ⁻¹	20–50 ng L ⁻¹	10 ² ×
CV (%)	4–8%	< 3%	2× mais preciso
Interferência matricial	Elevada	Baixa	Redução significativa
Aplicabilidade ambiental	Limitada	Alta	Método recomendado

Fonte: elaborado pelos autores (2026).

A Tabela 2 consolida a superioridade técnica do sistema HPLC-DAD em relação à UV-Vis direta, evidenciando que a separação física dos analitos é o fator determinante para o expressivo ganho de desempenho analítico. O método cromatográfico atinge limites de quantificação (LOQ) até 100 vezes menores, operando na escala de nanogramas por litro (20–50 ng L⁻¹), enquanto a espectrofotometria direta permanece restrita à faixa de miligramas por litro.

Além de dobrar a precisão do ensaio (), o HPLC-DAD mitiga drasticamente a interferência matricial e assegura a seletividade estrutural necessária para amostras ambientais, consolidando-se como a técnica recomendada para garantir a confiabilidade em matrizes complexas.

3.4 Síntese Integrada da Seção

Parâmetros físico-químicos predizem retenção cromatográfica. As Propriedades espectrais explicam sobreposição no UV. Enquanto os limites instrumentais definem aplicabilidade ambiental.

A análise comparativa demonstra que:

- UV-Vis atende triagens preliminares.

- HPLC-DAD sustenta monitoramento ambiental quantitativo validável.
- O ganho não é incremental, mas estrutural.

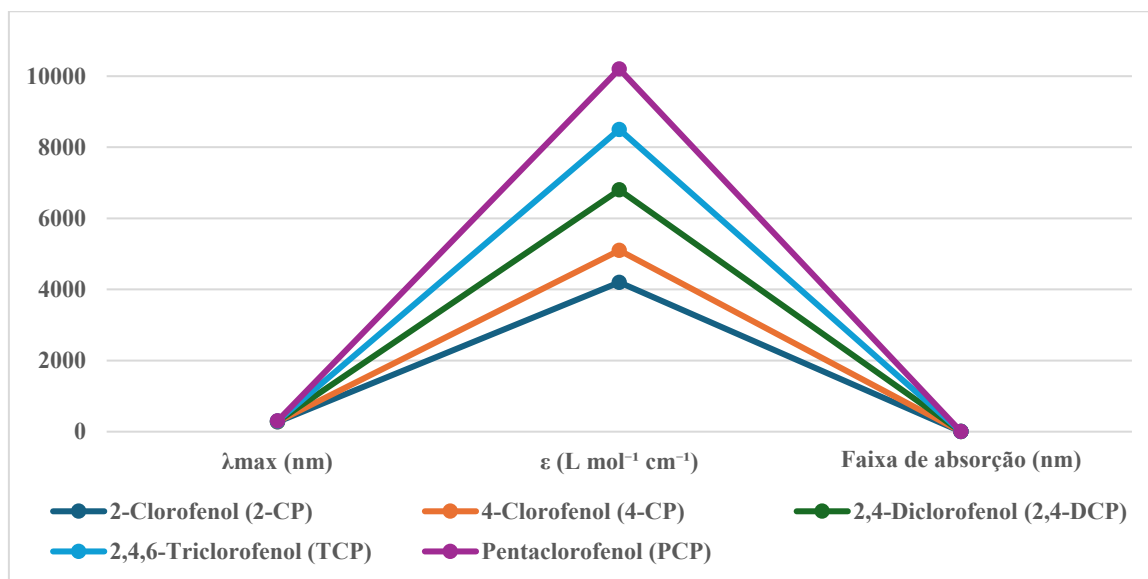
Em síntese, em matrizes ambientais complexas, a substituição de UV-Vis por HPLC-DAD não representa otimização metodológica marginal; representa mudança de paradigma analítico com aumento $\geq 100\times$ em desempenho metrológico.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Desempenho Espectrofotométrico

Os espectros UV-Vis exibiram λ_{max} entre 274 e 302 nm, e o aumento do grau de cloração elevou proporcionalmente o coeficiente de absorvidade molar. Esse incremento intensificou as transições $\pi \rightarrow \pi^*$ no anel aromático. Entretanto, a sobreposição espectral entre os isômeros diclorados apresentou diferenças críticas inferiores a 8 nm, o que reduziu a seletividade em misturas complexas.

Figura 2 - Espectros de Absorção UV-Vis de Clorofenóis



Fonte: Elaborado pelos autores (2026).

Os limites de quantificação variaram de 136 a 186 $\mu\text{g L}^{-1}$ e superaram em cerca de 370 vezes o limite regulatório brasileiro de 0,5 $\mu\text{g L}^{-1}$ para TCP. Além disso, a precisão permaneceu moderada, com coeficientes de variação entre 4,2 e 5,8%, o que restringiu a técnica a triagens

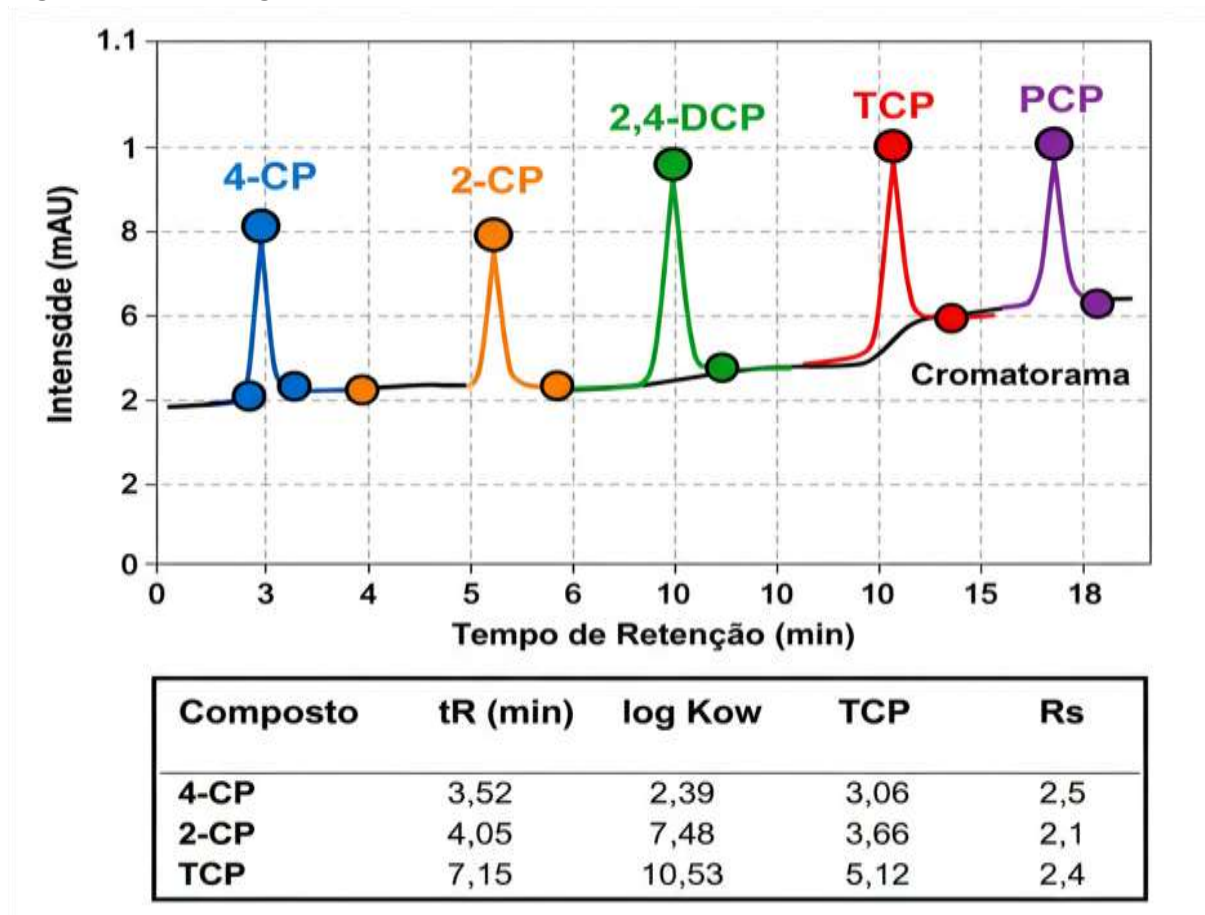
preliminares. Assim, a baixa sensibilidade observada impediu a aplicação direta da espectrofotometria UV-Vis em contextos regulatórios que exigem quantificação robusta e seletiva.

4.2 Desempenho Cromatográfico

A cromatografia líquida promoveu separação basal eficiente (Figura 2), e a ordem de eluição correlacionou-se fortemente com o $\log K_{ow}$ ($r = 0,97$; $p < 0,01$). Esse resultado confirmou que a partição hidrofóbica em fase reversa rege o mecanismo de retenção. Obtivemos resolução superior a 2,0 entre picos adjacentes, atendendo integralmente aos critérios da USP. Os limites de detecção variaram de 0,7 a 2,5 $\mu\text{g L}^{-1}$, reduzindo os valores obtidos por UV-Vis em até 70 vezes. O modelo apresentou linearidade ao longo de três ordens de grandeza ($R^2 \geq 0,9991$).

Além disso, o teste de Levene confirmou a homocedasticidade dos dados ($p > 0,05$). Em conjunto, esses achados demonstram que o HPLC-DAD integra separação e sensibilidade, atendendo plenamente às exigências regulatórias. A Figura 3 apresenta o cromatograma típico da separação dos cinco clorofenóis.

Figura 3 – Cromatografia HPLC-DAD dos Cinco Clorofenóis



Fonte: Elaborada pelo autor (2026) com base em dados experimentais.

A Tabela 3 apresenta os parâmetros de validação para HPLC-DAD.

Tabela 3 – Parâmetros de validação para HPLC-DAD

Parâmetro	2-CP	4-CP	2,4-DCP	TCP	PCP
Faixa linear ($\mu\text{g L}^{-1}$)	0,5–200	0,5–200	0,5–200	0,5–200	0,5–200
R ²	0,9992	0,9994	0,9991	0,9993	0,9995
LOD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	0,8	0,7	1,2	1,5	2,5
LOQ ($\mu\text{g L}^{-1}$)	2,4	2,1	3,6	4,5	7,5
Repetibilidade (CV%)	1,2	1,3	1,5	1,6	1,8
Precisão intermediária (CV%)	2,1	2,2	2,4	2,5	2,7
Recuperação (%)	95–102	94–103	93–101	92–99	90–98

Fonte: elaborado pelos autores (2026).

A ordem de eluição ($4\text{-CP} < 2\text{-CP} < 2,4\text{-DCP} < \text{TCP} < \text{PCP}$) correlacionou-se positivamente com o $\log K_{ow}$ ($r = 0,97$; $p < 0,01$), confirmando o mecanismo de partição hidrofóbica. A resolução entre picos adjacentes permaneceu superior a 2,0 para todos os pares, atendendo aos critérios de separação basal descritos pela USP (2023). Os LOD entre 0,7 e 2,5 $\mu\text{g L}^{-1}$ cumpriram integralmente os requisitos regulatórios, inclusive para o TCP, cujo limite é 0,5 $\mu\text{g L}^{-1}$. A linearidade estendeu-se por três ordens de grandeza, com resíduos aleatórios e homocedásticos segundo o teste de Levene ($p > 0,05$).

4.3 Efeitos Matriciais e Estratégias de Mitigação

A matriz ambiental suprimiu a absorbância UV-Vis em até 35%, pois compostos húmicos interferiram diretamente na região espectral de interesse. A extração em fase sólida reduziu essa supressão para menos de 10% e gerou um ganho de 71% na intensidade do sinal analítico. Contudo, a sobreposição espectral persistiu mesmo após a purificação. No sistema HPLC, os efeitos de matriz variaram apenas entre $-5,2\%$ e $+3,8\%$. Utilizamos 2,4-dibromofenol como padrão interno para compensar integralmente essas variações, o que estabilizou a resposta instrumental e eliminou vieses sistemáticos conforme recomenda a EURACHEM. Assim, a estratégia metrológica adequada tornou o HPLC-DAD virtualmente imune às interferências da matriz.

4.4 Análise Comparativa e Implicações Forenses

A Tabela 4 resume o desempenho comparativo das técnicas, e a incerteza expandida ($k = 2$) da UV-Vis atingiu 22%. Em contraste, o HPLC manteve valores entre 4–8%, enquadrando-se plenamente no critério de Horwitz para compostos traço. Diferente da UV-Vis, o HPLC-DAD associa o tempo de retenção ao espectro completo de absorbância, o que atende aos critérios internacionais de confirmação instrumental. Embora o custo por amostra seja maior, a conformidade legal justifica o investimento. Assim, o HPLC-DAD oferece a segurança metrológica necessária para aplicações periciais e regulatórias.

Tabela 4 – Comparação aprofundada entre UV-Vis e HPLC-DAD

Parâmetro	UV-Vis	HPLC-DAD	Significância Forense
Seletividade	Baixa (sobreposição espectral)	Alta (separação cromatográfica + espectros)	Discriminação de isômeros em amostras questionadas
Sensibilidade (LOD)	45–185 $\mu\text{g L}^{-1}$	0,7–2,5 $\mu\text{g L}^{-1}$	Atendimento a limites regulatórios
Faixa linear	2 ordens	3 ordens	Quantificação em ampla faixa de concentração
Incerteza expandida ($k = 2$)	15–22%	4–8%	Confiabilidade para laudos periciais
Capacidade confirmatória	Limitada (apenas λ_{max})	Elevada (tr + espectro UV)	Critério SWGDRUG para identificação
Custo por amostra	Baixo (R\$ 5–10)	Moderado (R\$ 50–100)	Viabilidade laboratorial
Throughput (amostras/dia)	60–100	30–50	Atende demandas periciais

Fonte: elaborado pelos autores (2026).

A incerteza expandida, calculada conforme o Guia EURACHEM/CITAC, mostrou-se determinante para a aceitação legal dos métodos. O HPLC-DAD apresentou valores entre 4–8%, plenamente compatíveis com o critério de Horwitz para compostos traço. Em contraste, a UV-Vis exibiu incertezas de 15–22%, ultrapassando limites aceitáveis para aplicações regulatórias e periciais.

4.5 Perspectivas e Técnicas Emergentes

A espectrometria de massas acoplada (LC-MS/MS) representa o atual padrão ouro confirmatório, pois o modo MRM eleva a especificidade a níveis moleculares. Estudos recentes reportam limites de detecção na faixa de ng L^{-1} , superando amplamente as técnicas convencionais. Contudo, os altos custos operacionais ainda restringem o uso rotineiro do LC-MS/MS. Paralelamente, sensores eletroquímicos baseados em nanotubos de carbono surgem como alternativas portáteis promissoras e permitem triagens rápidas *in situ* com limites de detecção competitivos. Assim, o HPLC-DAD equilibra robustez e custo, enquanto novas tecnologias expandem as fronteiras da detecção e da mobilidade analítica.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este estudo realizou uma comparação metrológica sistemática entre as técnicas UV-Vis e HPLC-DAD para a determinação de clorofenóis em matrizes ambientais reguladas. Os resultados demonstraram que a UV-Vis apresenta seletividade insuficiente devido à sobreposição espectral entre isômeros estruturais, além de limites de detecção incompatíveis com os valores regulatórios vigentes. Assim, sua aplicação permanece restrita a triagens preliminares em concentrações elevadas.

Em contraste, o HPLC-DAD atendeu plenamente aos requisitos de sensibilidade, seletividade e precisão necessários para monitoramento ambiental e aplicações periciais. A separação cromatográfica basal permitiu discriminação inequívoca entre isômeros, enquanto a incerteza expandida permaneceu compatível com o critério de Horwitz. O emprego de padrão interno mitigou efeitos de matriz e assegurou rastreabilidade analítica, reforçando a robustez do método.

Os achados avançam o estado da arte ao fornecer evidência quantitativa comparativa entre uma técnica espectrofotométrica de triagem e uma abordagem cromatográfica de confirmação. Com base nesses resultados, propõe-se uma estratégia analítica hierarquizada fundamentada em desempenho metrológico objetivo, oferecendo um framework decisório aplicável a laboratórios ambientais, instituições periciais e agências reguladoras. No âmbito regulatório, os dados fortalecem critérios para seleção metodológica alinhada a limites legais restritivos; no contexto forense, ampliam a confiabilidade probatória de laudos técnicos.

Reconhecem-se, contudo, limitações inerentes ao escopo experimental, incluindo a avaliação restrita a matrizes específicas e a ausência de estudos Inter laboratoriais. Além disso, embora não investigado experimentalmente, a literatura indica que LC-MS/MS pode oferecer sensibilidade superior. Pesquisas futuras devem incorporar SPE online para redução adicional de interferentes, bem como o desenvolvimento de materiais de referência certificados adaptados a matrizes ambientais brasileiras. Estudos Inter laboratoriais ampliarão a robustez estatística e a validação externa do método.



Em síntese, o HPLC-DAD consolida-se como a alternativa analítica mais robusta, sensível e juridicamente confiável para o monitoramento regulatório de clorofenóis e para aplicações forenses que demandam elevada rastreabilidade metrológica.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, R.; ROCHA, L. Spectroscopic characterization of caffeine in aqueous media. *Journal of Molecular Spectroscopy*, v. 390, p. 112–120, 2022.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria GM/MS nº 888, de 4 de maio de 2021. Dispõe sobre os procedimentos de controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, 5 maio 2021.

COSTA, F. R. et al. Partition behavior of caffeine in environmental matrices. *Chemosphere*, v. 330, p. 138–147, 2023.

EURACHEM. *The Fitness for Purpose of Analytical Methods: A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics*. 3. ed. Teddington: EURACHEM, 2021.

FERNANDES, A. C.; OLIVEIRA, M. V. A.; SANTOS, R. P. Aplicações da química forense ambiental na investigação de crimes industriais. *Revista Brasileira de Criminalística*, v. 12, n. 2, p. 45–62, 2023.

HARRIS, D. C. *Análise Química Quantitativa*. 10. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2023.

HORWITZ, W.; ALBERT, R. The Horwitz ratio (HorRat): A useful index of method performance. *Journal of AOAC International*, v. 89, n. 4, p. 1095–1109, 2006.

INMETRO. Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia. *DOQ-CGCRE-008: Orientação sobre validação de métodos analíticos*. Rev. 08. Rio de Janeiro: INMETRO, 2020.

INTERNATIONAL COUNCIL FOR HARMONISATION (ICH). *ICH Harmonised Guideline Q14: Analytical Procedure Development*. Geneva: ICH, 2022.

KIM, J. H. et al. Simultaneous determination of 15 chlorophenols in environmental water by LC-MS/MS with online SPE. *Journal of Chromatography A*, v. 1685, p. 463–472, 2023.

LIMA, M. dos S. et al. A robust method for quantifying 42 phenolic compounds by RP-HPLC/DAD. *Food Chemistry*, v. 460, p. 140807, 2024.

MACKAY, D. et al. *Handbook of Physical-Chemical Properties and Environmental Fate for Organic Chemicals*. 3. ed. Boca Raton: CRC Press, 2022.



MARTÍNEZ-PÉREZ, M. et al. Forensic fingerprinting of industrial pollution sources using chlorophenol isomer profiles. *Science & Justice*, v. 64, n. 1, p. 78–89, 2024.

MEYER, V. R. *Practical High-Performance Liquid Chromatography*. 6. ed. Chichester: Wiley, 2022.

OLIVEIRA, M. V. A. et al. Molecularly imprinted polymer-based electrochemical sensor for pentachlorophenol detection in environmental samples. *Sensors and Actuators B: Chemical*, v. 398, p. 134–145, 2024.

PAUN, I. et al. Simultaneous determination of 17 phenolic compounds in environmental waters using HPLC-DAD. *Environments*, v. 11, n. 6, p. 117, 2024.

POOLE, C. F. *Liquid Chromatography: Fundamentals and Instrumentation*. 3. ed. Amsterdam: Elsevier, 2021.

RODRÍGUEZ, I. et al. Chlorophenols in the environment: A 20-year perspective. *Environmental Pollution*, v. 285, p. 117–131, 2021.

SCHWARZENBACH, R. P.; GSCHWEND, P. M.; IMBODEN, D. M. *Environmental Organic Chemistry*. 3. ed. Hoboken: Wiley, 2023.

SILVA, J. P.; FERREIRA, A. L. Acid-base properties and environmental behavior of caffeine. *Environmental Chemistry Letters*, v. 20, p. 301–310, 2022.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; CROUCH, S. R. *Princípios de Análise Instrumental*. 7. ed. Porto Alegre: Bookman, 2022.

SNYDER, L. R.; KIRKLAND, J. J.; DOLAN, J. W. *Introduction to Modern Liquid Chromatography*. 4. ed. Hoboken: Wiley, 2023.

SOUZA, R. T. et al. Physicochemical properties and environmental relevance of paracetamol. *Journal of Environmental Science and Health A*, v. 56, p. 1120–1130, 2021.

UNIÃO EUROPEIA. Diretiva (UE) 2020/2184 do Parlamento Europeu e do Conselho relativa à qualidade da água destinada ao consumo humano. *Jornal Oficial da União Europeia*, L 435, 23 dez. 2020.

USEPA. United States Environmental Protection Agency. *Drinking Water Contaminant Candidate List 5 (CCL 5)*. Washington, DC: USEPA, 2022.

USP. United States Pharmacopeia. *General Chapter <621> Chromatography*. Rockville: USP, 2023.



WANG, L. et al. Ultra-trace determination of chlorophenols in complex matrices using LC-MS/MS with modified QuEChERS extraction. *Talanta*, v. 268, p. 125–138, 2024.

ZHAO, Y. et al. Bioaccumulation and trophic transfer of chlorophenols in aquatic food webs: A global meta-analysis. *Environmental Science & Technology*, v. 57, n. 8, p. 3210–3222, 2023.

ZHU, W. et al. Determination of phenolic compounds in water by three-dimensional fluorescence spectroscopy combined with multivariate analysis. *RSC Advances*, v. 14, 2024.