

Lucas Morés

**INTRODUÇÃO DE UMA FASE BIOSORVENTE NATURAL E
RENOVÁVEL PARA A TÉCNICA DE EXTRAÇÃO EM
PONTEIRA DESCARTÁVEL (DPX) PARA A DETERMINAÇÃO
DE CONTAMINANTES EMERGENTES EM AMOSTRAS DE
ÁGUAS DE LAGOS**

Dissertação submetida ao Programa de
Pós-Graduação em Química da
Universidade Federal de Santa
Catarina para a obtenção do Grau de
Mestre em Química Analítica
Orientador: Prof. Dr. Eduardo Carasek
da Rocha

FLORIANÓPOLIS
2018

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Morés, Lucas

INTRODUÇÃO DE UMA FASE BIORSORVENTE NATURAL E
RENOVÁVEL PARA A TÉCNICA DE EXTRAÇÃO EM PONTEIRA
DESCARTÁVEL (DPX) PARA A DETERMINAÇÃO DE
CONTAMINANTES EMERGENTES EM AMOSTRAS DE ÁGUAS DE
LAGOS / Lucas Morés ; orientador, Eduardo Carasek
da Rocha, 2018.

80 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de
Santa Catarina, Centro de Ciências Físicas e
Matemáticas, Programa de Pós-Graduação em Química,
Florianópolis, 2018.

Inclui referências.

1. Química. 2. Preparo de Amostras. 3. Cortiça. 4.
Extração em Ponteira Descartável. 5. Contaminantes
Emergentes. I. Carasek da Rocha, Eduardo. II.
Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de
Pós-Graduação em Química. III. Título.

Lucas Morés

**INTRODUÇÃO DE UMA FASE BISSORVENTE NATURAL E
RENOVÁVEL PARA A TÉCNICA DE EXTRAÇÃO EM
PONTEIRA DESCARTÁVEL (DPX) PARA A DETERMINAÇÃO
DE CONTAMINANTES EMERGENTES EM AMOSTRAS DE
ÁGUAS DE LAGOS**

Esta dissertação foi julgada adequada para a obtenção do título de Mestre em Química Analítica e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Química.

Florianópolis, 18 de Julho de 2018.

Prof. Dr. Vanderlei Gageiro Machado
Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Química

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Eduardo Carasek da Rocha
Orientador
Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC)

Dr^a. Morgana Frena
Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC)

Prof. Dr. Luiz Augusto dos Santos Madureira
Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC)

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Silvio e Marisa, por todo o suporte durante toda a minha caminhada, toda a paciência, carinho, auxílio, sempre me incentivando a continuar a estudar e sempre me apoiando nas minhas decisões. Sem vocês eu não teria conquistado nada disso. Amo vocês.

A minha família, Carla, Nona e Nono, avós Luiz e Zulide, Tios, Padrinhos e Primos, que sempre me apoiaram cada um de sua forma, sendo prestativos quando eu precisei e me dando forças nos momentos difíceis.

Aos meus amigos do CroMaas, por todo o companheirismo, pelas risadas e momentos de descontração, por toda a ajuda pessoal e profissional. Sou grato por toda a ajuda para a realização desse trabalho durante o mestrado e agradeço por ter conhecido muitos de vocês. Espero que na vida continuemos amigos, pois no coração já são eternos.

Um agradecimento especial a minha amiga Ana, que durante o meu mestrado esteve presente em momentos muito difíceis me apoiando, me aconselhando, estando do meu lado sempre. Agradeço muito a sua família por ter me acolhido e por você ter me proporcionado uma amizade verdadeira que eu quero para a vida toda. Amo você.

Ao Josias, que me co-orientou durante este projeto, me iniciou como pesquisador dentro do CroMaas e me ensinou muito durante todos estes anos. Além de um grande profissional se tornou um bom amigo, por me ouvir e me ajudar nos momentos bons e ruins. Te admiro.

A todos os meus amigos que de alguma forma estiveram me apoiando nesta caminhada, Gabi, Gabriel, Manuel, Fran, Murara, Diogo, Nicole, Talamini, Geovanna, Marina, Aline Maria, Bea Orzechovicz, Bia Zimmer, Bea Comelli, Giuli e a todos os amigos que estiveram comigo, muito obrigado. Vocês fazem meus dias muito melhor e vocês estão no meu coração para sempre. Amo vocês.

Ao meu orientador, Professor Doutor Eduardo Carasek, pela oportunidade de fazer o mestrado, por todo o conhecimento fornecido, apoio e pela paciência.

A UFSC e ao Programa de Pós-graduação em química pelo espaço concedido e oportunidade e pelo ensino público e de qualidade.

Ao CNPq pela bolsa de estudos permitindo dedicação exclusiva ao programa de pós-graduação em química.

A FAPESC pelo auxílio na realização deste trabalho.

RESUMO

O presente trabalho propõe, pela primeira vez, o uso do biossorvente cortiça como fase extratora para a técnica de extração em ponteira descartável (DPX) para determinação dos contaminantes emergentes metil parabeno (MP), etil parabeno (EtP), bezofenona (BZP), 3-(4-metilbenzilideno) cânfora (4-MBC) e 2-(etilhexil)-4-(dimetilamino) benzoato (OD-PABA) em amostras de águas de lagos usando cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a um detector por arranjo de diodos (HPLC-DAD). Para otimização da metodologia foram empregados planejamentos experimentais univariados e multivariados. As condições ótimas do procedimento de extração foram 800 μL de amostra em 3 ciclos, onde cada ciclo foi de 30 segundos, pH da amostra mantido em 6, e adição de 30% de NaCl m/v. Para a etapa de dessorção, as condições otimizadas foram obtidas como sendo 100 μL de uma mistura dos solventes metanol e acetonitrila (50:50, v/v), utilizando 1 ciclo de 30 segundos. Um excelente desempenho analítico foi alcançado com limites de detecção entre 0,6 $\mu\text{g L}^{-1}$ para o MP e 1,4 $\mu\text{g L}^{-1}$ para o 4-MBC e os limites de quantificação variaram de 2 $\mu\text{g L}^{-1}$ para o MP a 4,3 $\mu\text{g L}^{-1}$ para o 4-MBC, respectivamente. Os coeficientes de correlação obtidos estiveram entre 0,9962 para o EtP a 0,9980 para o MP. Precisão e exatidão do método foram verificadas através de desvios padrões relativos (RSD %) interdia e intradia e de ensaios de recuperações relativas, respectivamente. A recuperação relativa variou de 71 a 132%, a precisão interdia foi de 3 a 23% (n=3) e a intradia de 9 a 23% (n=9).

Palavras-Chave: Cortiça, DPX, contaminantes emergentes, biossorvente, água de lago.

ABSTRACT

The present study proposes, for the first time, the use of the biosorbent cork as extraction phase for disposable pipette extraction technique (DPX) for the determination of the emerging contaminants methyl paraben (MP), ethyl paraben (EtP), benzophenone (BZP), 3-(4-methylbenzylidene) camphor (4-MBC) and 2-(ethylhexyl)-4-(dimethylamino) benzoate (OD-PABA) in lake water samples using high-performance liquid chromatography diode array detection (HPLC-DAD). The optimized conditions were assessed by univariate and multivariate experimental designs, and these conditions were comprised of 800 μL of sample using 3 cycles of 30 seconds, pH adjusted at 6, and addition of 30% w/v of NaCl. For the desorption step, the optimized desorption conditions were achieved with 100 μL of a mixture comprised of methanol and acetonitrile (50:50, v/v), using 1 cycle of 30 seconds. Excellent analytical performance was achieved with limits of detection ranged from 0.6 $\mu\text{g L}^{-1}$ for MP to 1.4 $\mu\text{g L}^{-1}$ for 4-MBC, and the limits of quantification varied from 2 $\mu\text{g L}^{-1}$ for MP to 4.3 $\mu\text{g L}^{-1}$ for 4-MBC, respectively. The correlation coefficients obtained ranged from 0.9962 for EtP to 0.9980 for MP. The method accuracy was evaluated by analyte relative recoveries which varied from 71 to 132%, and the interday precision ranged from 3 to 23% ($n = 3$) and intraday from 9 to 23% ($n = 9$).

Keywords: Cork, DPX, emerging contaminants, biosorbent, lake water.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1:** Etapas realizadas no processo de preparo da técnica de SPE. (Adaptado de Jardim, 2010). 31
- Figura 2:** Etapas envolvidas no processo da DPX (Adaptado de Bordin, 2016). 33
- Figura 3:** Monômeros presentes na estrutura da suberina (Autoria Própria). 37
- Figura 4:** Estrutura do siringil álcool (S), guaiacil álcool (G) e o álcool p-hidroxílico (p-H) (Adaptado de Sathawong et al., 2018). 38
- Figura 5:** Estrutura da rede polimérica da lignina (Adaptado de Souto, 2015). 39
- Figura 6:** Representação da disposição das células da cortiça e três diferentes seções (Adaptado de Gil, 1993). 40
- Figura 7:** Microscopia eletrônica de varredura (MEV) da superfície de partículas da cortiça, sendo em (A) 600 μm e (B) 100 μm (Adaptado de Barbosa et al., 2017). 40
- Figura 8:** Preparo das ponteiros de DPX com o pó de cortiça. 44
- Figura 9:** Cromatograma da separação dos cinco contaminantes emergentes acompanhados em 254 nm. 50
- Figura 10:** Comparação entre os cromatogramas do branco e de uma fortificação realizada com a cortiça na ponteira de DPX acompanhado em 254 nm (*Condições: pH mantido em 6,00, sem adição de sal, 1 min. e 3 ciclos de extração, 20 mg de cortiça, 800 μL de amostra, 1 min. e 1 ciclo de dessorção, 200 μL de uma mistura de solventes ACN:MeOH 50:50 (v/v)). 51
- Figura 11:** Superfície ternária obtida para a escolha do melhor solvente de dessorção (*Condições: fortificação de 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ dos analitos, pH mantido em 6,00, sem adição de sal, 1 min. e 3 ciclos de extração, 20 mg

de cortiça, 800 µL de amostra, 1 min. e 1 ciclo de dessorção, 200 µL de solvente.)..... 52

Figura 12: Gráfico de barras obtido para os diferentes tempos de dessorção estudados (*Condições: fortificação de 100 µg L⁻¹ dos analitos, pH mantido em 6,00, sem adição de sal, 1 min. e 3 ciclos de extração, 20 mg de cortiça, 800 µL de amostra, 1 ciclo de dessorção, 200 µL de solvente ACN:MeOH 50:50 (v/v)). 53

Figura 13: Gráfico de barras obtido estudando-se os 4 ciclos de dessorção (*Condições: fortificação de 100 µg L⁻¹ dos analitos, pH mantido em 6,00, sem adição de sal, 1 min. e 3 ciclos de extração, 20 mg de cortiça, 800 µL de amostra, 30 s de dessorção, 200 µL de solvente ACN:MeOH 50:50 (v/v)). 54

Figura 14: Gráfico de barras obtido para a massa de cortiça adicionada na ponteira de DPX (*Condições: fortificação de 100 µg L⁻¹ dos analitos, pH mantido em 6,00, sem adição de sal, 1 min. e 3 ciclos de extração, 800 µL de amostra, 30 s e 1 ciclo de dessorção, 200 µL de solvente ACN:MeOH 50:50 (v/v))...... 55

Figura 15: Gráfico de barras obtido para otimização do volume de solvente de dessorção (*Condições: fortificação de 100 µg L⁻¹ dos analitos, pH mantido em 6,00, sem adição de sal, 1 min. e 3 ciclos de extração, 800 µL de amostra, 30 s e 1 ciclo de dessorção, solvente ACN:MeOH 50:50 (v/v))...... 56

Figura 16: Superfície resposta obtida pelos resultados do planejamento Doehlert (*Condições: fortificação de 100 µg L⁻¹ dos analitos, pH mantido em 6,00, 3 ciclos de extração, 800 µL de amostra, 30 s e 1 ciclo de dessorção, 100 µL de solvente ACN:MeOH 50:50 (v/v))...... 57

Figura 17: Gráfico de barras obtido para a otimização do número de ciclos de extração (*Condições: fortificação de 100 µg L⁻¹ dos analitos, 3 ciclos de extração, pH mantido em 6,00, 800 µL de amostra, 30 s de extração, 30% de sal, 30 s e 1 ciclo de dessorção, 100 µL de solvente ACN:MeOH 50:50 (v/v))...... 58

Figura 18: Gráfico obtido para o número de ciclos de limpeza (*Condições: fortificação de 100 µg L⁻¹ dos analitos, 3 ciclos de extração,

pH mantido em 6,00, 800 μ L de amostra, 30s e 3 ciclos de extração, 30% de sal, 30 s e 1 ciclo de dessorção, 100 μ L de solvente ACN:MeOH 50:50 (v/v))..... 59

Figura 19: Cromatogramas da fortificação dos analitos e dos brancos acompanhados em 254, 298 e 310 nm. 61

Figura 20: Gráfico de barras para o estudo da estabilidade da cortiça nas ponteiras de DPX. 64

Figura 21: Gráfico de Daniel. 65

Figura 22: Gráfico de Lenth's. 65

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Algumas propriedades para cinco compostos conhecidos como contaminantes emergentes (Autoria Própria).	29
Tabela 2: Diferentes fases extratoras disponíveis comercialmente para a DPX com diferentes usos e volumes (Adaptado de Pinto e Queiroz, 2015; DPX Technologies).	34
Tabela 3: Composição química da cortiça em diferentes amostras (Adaptado de Olivellá et al., 2013).	36
Tabela 4: Aplicações da cortiça em diferentes técnicas de preparo de amostras, em diferentes matrizes e compostos.	41
Tabela 5: Tabela dos experimentos utilizados no planejamento Doehlert.	45
Tabela 6: Experimentos realizados para estudo do solvente de dessorção.	46
Tabela 7: Parâmetros selecionados para realização do teste de Youden.	48
Tabela 8: Combinação entre os parâmetros da condição nominal e da variação escolhida.	48
Tabela 9: Combinação fatorial entre os parâmetros selecionados e os efeitos determinados.	49
Tabela 10: Limites de detecção, quantificação, faixa linear de trabalho, coeficiente de correlação linear e as equações lineares para os 5 analitos.	60
Tabela 11: Recuperações relativas e precisões intradia e interdia na amostra de água da Lagoa da Conceição.	62
Tabela 12: Recuperações e precisões (RSD %) em função da concentração do analito de acordo com as normas estabelecidas pela AOAC (2016).	63

Tabela 13: Comparação entre o método proposto e outros publicados na literatura. Todos os estudos empregam LC com UV-Vis como detecção.
..... 69

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

- 4-MBC – 3-(4-metilbenzilideno) cânfora, do inglês 3-(4-*Methylbenzylidene*) *camphor*.
- ACN – Acetonitrila, do inglês *Acetonitrile*.
- BA μ E – Microextração em barra adsortiva, do inglês *Bar adsorptive microextraction*.
- BZP – Benzofenona, do inglês *Benzophenone*.
- CE – Eletroforese capilar, do inglês *Capilar electrophoresis*.
- DAD – Detector por arranjo de diodos, do inglês *Diode array detector*.
- DPX – Extração em ponteira descartável, do inglês *Disposable pipette extraction*.
- DPX-RP – Extração em ponteira descartável com fase reversa, do inglês *Reverse phase disposable pipette extraction*.
- DPX-CX – Extração em ponteira descartável com fase de troca catiônica, do inglês *Cationic change disposable pipette extraction*.
- DPX-WAX – Extração em ponteira descartável com fase de troca aniônica, do inglês *Anionic change disposable pipette extraction*.
- DPX-WCX – Extração em ponteira descartável com fase de troca catiônica, do inglês *Cationic change disposable pipette extraction*.
- DPX-Si – Extração em ponteira descartável com fase de silício, do inglês *Silicon phase disposable pipette extraction*.
- DPX-SC – Extração em ponteira descartável vazia, do inglês *Empty disposable pipette extraction*.
- DPX-Blank – Extração em ponteira descartável branca, do inglês *Blank disposable pipette extraction*.
- EtP – Etil parabeno, do inglês *Ethyl paraben*.
- FTIR – Infravermelho por transformada de Fourier, do inglês *Fourier transform infrared*.
- G - Guaiacyl álcool, do inglês *Guaiacyl alcohol*.
- GC – Cromatografia gasosa, do inglês *Gas chromatography*.
- HF-DLLME – Microextração líquido-líquido dispersiva com fibra oca, do inglês *Hollow-fiber dispersive liquid-liquid microextraction*.
- HPA – Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, do inglês *Polycyclic aromatic hydrocarbons*.

HPLC – Cromatografia líquida de alta eficiência, do inglês *High performance liquid chromatography*.

LC – Cromatografia líquida, do inglês *Liquid chromatography*.

LLE – Extração líquido-líquido, do inglês *Liquid-liquid extraction*.

LOD – Limite de detecção, do inglês *Limit of detection*.

LOQ – Limite de quantificação, do inglês *Limit of quantification*.

MeOH – Metanol, do inglês *Methanol*.

ME – Margem de erro, do inglês *Margin of error*.

MEV – Microscopia eletrônica de varredura, do inglês *Scanning electronic microscopy*.

MP – Metil parabeno, do inglês *Methyl paraben*.

OD-PABA - 2-(Etilhexil)-4-(dimetilamino) benzoato, do inglês *2-(ethylhexyl)-4-(dimethylamino) benzoate*.

p-H - Álcool p-hidroxílico, do inglês *p-hidroxy alcohol*.

R – Coeficiente de correlação linear, do inglês *Linear correlation coefficient*.

RMN – Ressonância magnética nuclear, do inglês *Nuclear magnetic resonance*.

S - Syringyl álcool, do inglês *Syringyl alcohol*.

SME – Margem de erro simultânea, do inglês *Simultaneous margin of error*.

SPE – Extração em fase sólida, do inglês *Solid phase extraction*.

SPME – Microextração em fase sólida, do inglês *Solid phase microextraction*.

TFME – Microextração em filme fino, do inglês *Thin-film microextraction*.

USEPA – Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos, do inglês *United States Environmental Protection Agency*.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	25
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	27
2.1 CONTAMINANTES EMERGENTES	27
2.2 PREPARO DE AMOSTRAS	30
2.3 EXTRAÇÃO EM PONTEIRA DESCARTÁVEL.....	32
2.4 BIOSORVENTES.....	35
2.5 CORTIÇA	36
3 OBJETIVOS	42
3.1 OBJETIVO GERAL	42
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	42
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	43
4.1 REAGENTES E MATERIAIS	43
4.2 INSTRUMENTAÇÃO.....	43
4.3 PREPARO DAS PONTEIRAS DE DPX COM CORTIÇA	44
4.4 OTIMIZAÇÃO DO PROCEDIMENTO DA DPX.....	45
4.5 FIGURAS DE MÉRITO E APLICAÇÃO DO MÉTODO	46
4.6 ESTABILIDADE DAS PONTEIRAS DE DPX.....	47
4.7 TESTE DE ROBUSTEZ.....	47
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES	50
5.1 SEPARAÇÃO CROMATOGRÁFICA.....	50
5.2 OTIMIZAÇÕES DO MÉTODO	50
5.2.1 Branco da Cortiça e Extração.....	50
5.2.2 Otimização do Solvente de Dessorção	51

5.2.3 Otimização do Tempo de Dessorção.....	52
5.2.4 Otimização do Número de Ciclos de Dessorção.....	53
5.2.5 Otimização da Massa de Cortiça.....	54
5.2.6 Otimização do Volume de Dessorção.....	55
5.2.7 Otimização do Tempo de Extração vs Adição de Sal (NaCl).....	56
5.2.8 Otimização do Número de Ciclos de Extração.....	57
5.2.9 Otimização da Etapa de Limpeza da Cortiça na DPX.....	58
5.2.10 Condições Otimizadas do Método.....	59
5.3 FIGURAS ANALÍTICAS DE MÉRITO.....	60
5.4 ESTABILIDADE DAS PONTEIRAS DE DPX COM CORTIÇA.....	63
5.5 TESTE DE ROBUSTEZ.....	64
5.6 COMPARAÇÃO COM OUTROS MÉTODOS REPORTADOS NA LITERATURA.....	66
6 CONCLUSÃO.....	70
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	71

1 INTRODUÇÃO

O termo contaminante emergente se refere à compostos que não apresentam uma legislação indicando limites máximos aceitáveis em diversas matrizes, sejam elas biológicas, alimentares ou ambientais. Entretanto, compostos com essa classificação, trazem problemas a saúde humana, atuando na desregulação do sistema endócrino, além de poder causar alterações hormonais e até mesmo levar ao desenvolvimento de câncer. O descarte inadequado por meio de redes de esgoto doméstica, indústrias ou até mesmo hospitais, acabam por poluir ambientes como águas de lagos, e devido ao seu potencial tóxico nos organismos dos seres vivos, estes devem ser monitorados e controlados no ambiente.

Como estes compostos, por sua vez, estão a níveis traço e em matrizes complexas, como a água, um meio de se contornar este problema é utilizando o preparo de amostras. Este é um procedimento importante dentro de uma série de etapas analíticas a fim de se obter análises com resultados precisos e exatos. Esta etapa se faz necessária, pois, apesar do avanço de diversos instrumentos analíticos, muitos ainda apresentam dificuldades com a injeção de amostras em sua forma bruta, causando problemas como entupimento de colunas e injetores. Além disso, os compostos a serem determinados apresentam-se em concentrações baixas nessas amostras, sendo, muitas vezes, dificultado a detecção direta, necessitando, portanto, serem concentrados a fim de se obter uma resposta significativa para poderem ser quantificados no sistema analítico.

Um das técnicas utilizadas no preparo de amostras é a extração em ponteira descartável (DPX). Essa é uma técnica derivada da extração em fase sólida (SPE), contudo, utiliza pequena quantidade de um material extrator em uma ponteira, sendo seu manuseio relativamente simples, de baixo custo, além de gerar pouca quantidade de resíduos. A DPX apresenta algumas fases extratoras comerciais disponíveis atualmente. Além disso, existe a chamada DPX branco que não contém fase extratora e que são vendidas com o objetivo de se desenvolver novos métodos abrangendo diferentes fases extratoras, visando aumentar a eficiência e a seletividade na extração de diversos compostos. Uma das alternativas a estas fases são os biossorbentes, como a cortiça, que são materiais que apresentam boa capacidade sortiva, estabilidade química e física, além de serem naturais, o que estão de acordo com diversos aspectos ecológicos, como serem renováveis.

Partindo-se dos princípios descritos, cinco contaminantes emergentes foram, sendo metil e etil parabeno, classificados como plastificantes e benzofenona, 3-(4-metilbenzilideno) cânfora e 2-

(etilhexil)-4-(dimetilamino) benzoato, classificados como filtros U.V., sendo determinados utilizando a DPX com cortiça e o sistema de detecção por cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por arranjo de diodos (HPLC-DAD). Algumas vantagens apresentadas no desenvolvimento deste método são o baixo custo vinculado à cortiça obtida, simplicidade tanto no preparo das ponteiras quanto nas extrações, atingindo limites de detecção e quantificação baixos e precisões e recuperações satisfatórias.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 CONTAMINANTES EMERGENTES

Matrizes complexas são, de maneira geral, as que apresentam matéria orgânica dissolvida, partículas suspensas e uma gama de compostos presentes, que podem ser possíveis interferentes promovendo variações no pH bem como a presença de sal alterando a força iônica do meio. Além disso, essas matrizes apresentam incompatibilidade com diversos instrumentos de análise, podendo causar eventuais problemas. Uma das matrizes que se classifica dentro destes parâmetros é a água (Jiang, et al., 2015; Jönsson e Mathiasson, 2000).

A água é uma fonte vital para a saúde humana e ambiental, sendo uma das substâncias mais abundantes na natureza. Seu ciclo hidrológico permite que esta se renove, portanto, seu uso é vasto, desde a base para a produção de diversos produtos em indústrias, bem como na agricultura e em hidrelétricas para a geração de energia. Com o crescente aumento do consumo de água, a disponibilidade de água limpa, tanto para o consumo quanto o lazer, vem sendo ameaçada devido ao despejo inadequado de milhões de toneladas de esgoto, sendo este de origem principalmente industrial, doméstica ou hospitalar. Diante disso, se faz necessário o controle da qualidade da mesma pois, além do seu uso em diversas aplicações, águas das mais variadas fontes são utilizadas como receptores de efluentes, desde o doméstico ao industrial e, muitas vezes, esses efluentes não passam por um tratamento prévio adequado e são descartados de maneira irregular (Libânio, 2008; Otomo, 2010; Ghiselli, 2006; Tankiewicz et al., 2011).

Diante disso, nas últimas décadas, pesquisas vem sendo realizadas, pois ambientes aquáticos que recebem o descarte irregular de efluentes que contém compostos orgânicos com potencial químico tóxico tanto para o ecossistema como a saúde humana. Esses, muitas vezes, são encontrados em níveis traço no ambiente, podendo bioacumular-se inclusive em animais marinhos que serão consumidos pelo homem (Tankiewicz et al., 2011; Sophia e Lima, 2018; Petrović et al., 2003).

Essas substâncias, tanto de origem natural quanto sintética, apresentam um potencial nocivo, principalmente no meio aquático e consequentemente afetam o bem-estar da fauna e da flora. A exposição destes compostos no ambiente aquático pode causar efeitos adversos, como na reprodução, na fertilidade e na própria sobrevivência dos animais. Já na saúde humana tendem a afetar principalmente o sistema endócrino, desregulando a produção hormonal relacionada à reprodução,

fertilidade, sistema imunológico e neurológico e ainda podendo levar ao desenvolvimento de câncer (Petrović et al., 2003, De La Cruz et al., 2012; Inostroza et al., 2017; Bila e Dezotti, 2007).

Muitos desses compostos são classificados, segundo a USEPA (Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos), como contaminantes emergentes, que são substâncias que não apresentam diretrizes ou intervenções legislativas que regulamentem o limite máximo permitido desses contaminantes no ambiente. Dependendo das propriedades físico-químicas e se estão em sua forma original ou metabolizada, esses compostos podem ser encontrados na natureza em sua forma livre dissolvida ou ligada em sedimentos ou partículas de matérias orgânicas. Estes compostos são hidrofóbicos, apresentando uma baixa solubilidade em água, sendo assim, possibilita com que se bioacumulem em animais, além de aumentar a resistência microbiana a drogas (Dimpe e Nomngongo, 2016; Inostroza et al, 2017; Sophia e Lima; 2018).

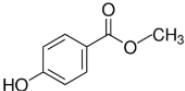
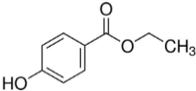
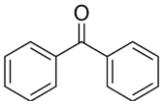
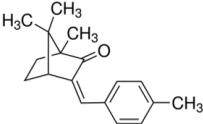
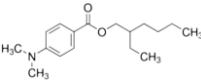
O consumo de produtos contendo esses contaminantes vem crescendo devido à grande demanda na produção industrial. Estes compostos são utilizados em diversas aplicações, como pesticidas, biocidas, fármacos, produtos de higiene pessoal, plastificantes, aditivos em alimentos, filtros U.V., surfactantes e detergentes, desinfetantes, hormônios naturais e sintéticos e em alguns produtos de desinfecção (Inostroza et al, 2017; Sophia e Lima, 2018). Algumas das propriedades dos compostos de interesse deste estudo, como metil e etil parabeno, benzofenona, 3-(4-metilbenziledeno) cânfora e 2-(etilhexil)-4-(dimetilamino) benzoato são apresentadas na Tabela 1.

O metil e etilparabeno são substâncias amplamente utilizadas na composição de diversos produtos, principalmente para produtos de higiene pessoal e de limpeza, bem como na fabricação de plásticos e enlatados, além de produtos biológicos para crianças. A benzofenona é muito utilizada na produção de cosméticos e está presente em filtros ultravioleta para proteção da pele, assim como a 3-(4-metilbenziledeno) cânfora e o 2-(etilhexil)-4-(dimetilamino) benzoato, sendo também aplicáveis em produtos de higiene pessoal também com a ação protetora da luz solar (Papadopoulos et al, 2016; Fent et al., 2010; Ekpeghere et al., 2016, Ma et al., 2017).

O controle desses compostos se faz importante, pois estudos apontam que o MP e EtP estão associados a um potencial carcinogênico e atuam na atividade estrogênica dentro do organismo humano, além de serem desreguladores do sistema endócrino. Já os compostos BZP, 4-MBC e OD-PABA possuem uma alta estabilidade química, o que se torna

algo preocupante, pois podem permanecer no ambiente por períodos longos e são apontados em casos de crises agudas e crônicas, além de influenciarem na fertilidade e reprodução de peixes e invertebrados. Entretanto, ainda se desconhece muito acerca dos efeitos ecotoxicológicos que os mesmos provocam (Papadopoulos et al, 2016; Fent et al, 2010; Ma et al., 2017; Ekpeghere, et al., 2016).

Tabela 1: Algumas propriedades para cinco compostos conhecidos como contaminantes emergentes (Autoria Própria).

Composto	Sigla	Estrutura	pKa	log K _{ow}	Ref.
Metil Parabeno	MP		7,87	2,00	Almeida e Nogueira, 2014
Etil Parabeno	EtP		7,88	2,49	Almeida e Nogueira, 2014
Benzofenona	BZP		-	3,15	Almeida et al., 2013
3-(4-Metilbenzilideno) cânfora	4-MBC		-	5,92	Søeborg et al., 2006
2-(etilhexil)-4-(dimetilamino) benzoato	OD-PABA		2,39	6,15	Ma et al., 2017

Por conta da problemática apresentada por estes compostos, além de se encontrarem em níveis traços no ambiente e pela dificuldade da análise direta de matrizes complexas como a água, uma forma de contornar esse problema é utilizando o preparo de amostras (Tankiewicz et al., 2011; Bila e Dezotti. 2007).

2.2 PREPARO DE AMOSTRAS

Em uma análise para a identificação de compostos, metodologias analíticas seguem uma série de etapas importantes para que se obtenha êxito. Os procedimentos principais realizados em uma marcha analítica vão desde a amostragem, o condicionamento da amostra e sua forma de armazenamento, o preparo dessa amostra e a análise em um sistema instrumental. Muitas amostras biológicas e ambientais exibem problemas com a injeção direta em instrumentos analíticos devido à presença de concomitantes que dificultam a extração/separação dos analitos além da presença de material particulado que pode acarretar danos irreversíveis aos sistemas analíticos. Sendo assim, a etapa predominante nessa marcha analítica para contornar esses impasses é o preparo de amostras (Nováková et al., 2009; Rocha et al., 2013).

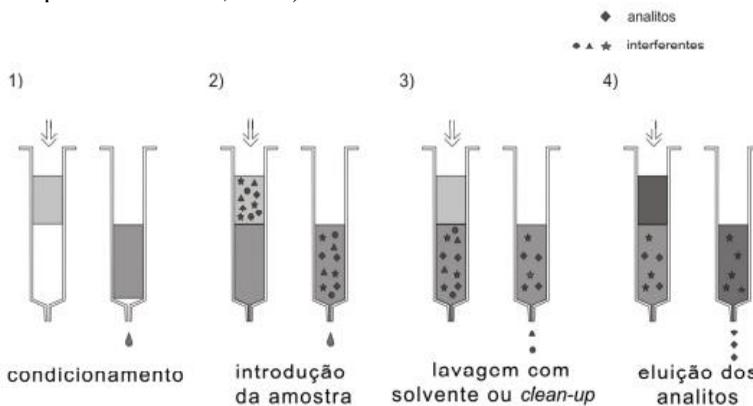
O preparo de amostras é a etapa mais crítica dentro de uma metodologia analítica pois demanda o maior período de tempo para ser realizado além de ocorrer possíveis perdas dos analitos, acarretando em eventuais erros ao final da análise. A finalidade desse processo consiste em isolar e concentrar os analitos a níveis mais adequados para serem detectados, além de eliminar interferências e, ao final do processo, os compostos devem estar em formas e em matrizes que sejam compatíveis ao instrumento analítico. Dentre os atributos esperados no preparo de amostra, ressalta-se a simplicidade e facilidade para o manuseio de técnicas, rapidez, custo benefício, boa seletividade a fim de eliminar interferentes e outros compostos que não são desejados para a análise, miniaturização para se reduzir o uso de solventes tóxicos, gerando uma menor quantidade de resíduos e a automatização para minimização de erros provocados por manipulação humana (Berton et al., 2016; Carasek e Merib, 2015; Filippou et al., 2017; Queiroz et al., 2009).

A escolha da técnica de preparo de amostras é o fator principal para se obter resultados confiáveis e tal escolha depende de diversos fatores, como a complexidade da matriz, as características e propriedades dos analitos, bem como a técnica ideal que se adeque a esses parâmetros para garantir uma boa eficiência ao final da análise. Existem muitas técnicas já conceituadas de preparo de amostras, dentre as tradicionais estão a extração em fase sólida (SPE) e a extração em fase líquida (LLE), as quais já são consolidadas e utilizadas por diversas organizações internacionais (Boyaci et al., 2015; Jardim, 2010).

A SPE é uma das técnicas mais utilizadas para a extração e/ou concentração de compostos em amostras complexas, apresentando boa eficiência quando realizada em conjunto com sistemas como a

cromatografia líquida (LC), cromatografia gasosa (GC) e a eletroforese capilar (CE) (Jardim, 2010). Ela foi introduzida em 1976 com a finalidade de suprir algumas dificuldades apresentadas pela extração líquido-líquido, como o uso elevado de solventes orgânicos clorados e a formação de emulsões que tornavam o tempo de preparo extenso (Yoshimura et al., 1976). Seu fundamento é baseado na sorção de analitos em uma fase sólida com subsequente eluição por um solvente adequado. Algumas vantagens apresentadas frente a LLE clássica são o volume reduzido de solventes tóxicos, menor tempo de preparo, boas porcentagens de recuperação dos analitos, fácil automatização e uma boa capacidade para melhorar a seletividade e a concentração dos analitos. Os mecanismos principais de interação por esta técnica são a adsorção, partição, troca iônica ou por exclusão. Na Figura 1 estão apresentadas as principais etapas da SPE, sendo (1) condicionamento da fase sorvente para ativar os sítios ativos; (2) a introdução da amostra para que ocorra o processo de extração; (3) uso de um solvente para retirar possíveis interferências que eventualmente também tenham sido extraídas e (4) eluição dos analitos com outro solvente adequado (Fillipou et al., 2017; Jardim, 2010; Pawliszyn, 1990; Hernández-Borges et al., 2007).

Figura 1: Etapas realizadas no processo de preparo da técnica de SPE. (Adaptado de Jardim, 2010).



A SPE trouxe muitos avanços dentro do preparo de amostras. Entretanto, apresenta algumas desvantagens, que apesar de serem melhorias em relação a LLE, ainda possui um tempo elevado para sua realização, utiliza quantidades relativamente grandes de fase extratora e de solventes orgânicos e o custo elevado de seus cartuchos, que na maioria

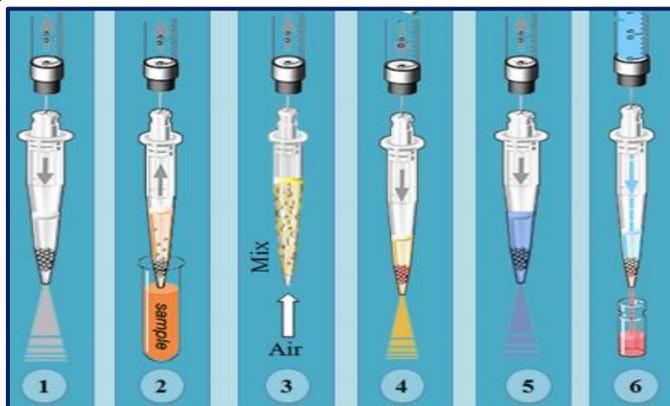
dos procedimentos devem ser descartados após o uso. Baseado nisso e em algumas problemáticas das técnicas clássicas, o desenvolvimento de técnicas miniaturizadas vem sendo realizado desde o século XX até os dias atuais, com a finalidade de se obter melhorias na eficiência de extração e sempre visando os conceitos de química verde. Dentre essas técnicas, uma delas desenvolvida recentemente é a extração em ponteira descartável (DPX) (Farajzadeh et al., 2011; Fillipou et al., 2017; Tobiszewski et al., 2009; Brewer, 2003).

2.3 EXTRAÇÃO EM PONTEIRA DESCARTÁVEL

A DPX é uma técnica derivada da SPE, introduzida no ano de 2003 pelo Dr. Willian Brewer da Universidade da Carolina do Sul - EUA, com a finalidade de suprir algumas desvantagens da SPE, fazendo uso de menores volumes de sorvente e de solventes, reduzindo significativamente o tempo para a realização do experimento. Além disso, dispensa o uso de vácuo que em algumas vezes é necessário na SPE, tornando a técnica com um maior custo benefício. O dispositivo de DPX consiste de uma ponteira contendo dois filtros, um inferior e outro superior, em dois volumes de 1 ou 5 mL, onde dentro da ponteira está contida a fase extratora. Ao se introduzir a amostra por meio de aspiração com ar, uma mistura dinâmica é promovida, um equilíbrio de sorção ocorre e a extração dos analitos transcorre rapidamente. O procedimento para realização de um método envolvendo a DPX está representado na Figura 2 (Brewer, 2003; Li et al., 2012; Guan et al., 2009).

As etapas envolvidas na DPX são análogas às etapas da SPE e consistem em (1) condicionamento da fase sorvente com um solvente adequado para ativação dos sítios ativos; (2) aspiração da amostra líquida para o interior da ponteira; (3) juntamente é aspirado ar para promover a mistura dinâmica entre a amostra e a fase extratora; (4) descarte da amostra após a extração ter ocorrido; (5) lavagem da fase extratora com um solvente para remoção de interferentes e (6) eluição dos analitos com um solvente adequado. Este esquema representa um ciclo completo para o processo de DPX e em todas as etapas a aspiração de ar é realizada para promover a rápida interação dos compostos com a fase extratora e os solventes (Bordin et al., 2016).

Figura 2: Etapas envolvidas no processo da DPX (Adaptado de Bordin, 2016).



Para garantir uma boa eficiência de extração, alguns parâmetros importantes são otimizados nessa técnica. Essas variáveis possuem diferentes influências em cada caso a ser trabalhado, mas de maneira geral, otimiza-se a massa de fase extratora adicionada, pois a extração está diretamente ligada à quantidade de massa de sorvente, sendo assim, espera-se que quanto mais fase extratora, mais analito é extraído; o solvente escolhido para a eluição dos analitos, pois este deve ser puro e apresentar seletividade para os compostos de interesse; tempo de extração para garantir o tempo necessário para ocorrer o equilíbrio de sorção entre a fase extratora e os analitos; o tempo de dessorção para ocorrer a interação entre o solvente e os analitos; o número de ciclos, tanto para extração como a dessorção, para se obter o melhor fator de enriquecimento; o pH para garantir a forma que o analito se encontra para interagir com a fase extratora, seja neutro para fases neutras e ionizado quando se trabalha com fases de troca iônica; e força iônica para se promover o efeito *salting out*, onde a concentração de íons salinos acabam interagindo com as moléculas de água, promovendo o efeito de solvatação, deixando os analitos livres para migrarem para a fase extratora (Pinto e Queiroz, 2015; Corazza et al., 2017; Psillakis e Kalogerakis, 2003).

Essa técnica tem sido uma importante ferramenta na purificação de proteínas e peptídeos em áreas de estudo de genoma e metabolismo. Além disto, também foi aplicada em análises ambientais, de toxicologia e drogas de abuso, bem como vem sendo utilizada em procedimentos na determinação de fármacos em fluidos biológicos (Chaves et al., 2015;

Kole et al., 2011). O emprego dessa técnica vem crescendo devido às grandes vantagens que a mesma traz, e existem algumas fases comerciais disponíveis que permitem essa variabilidade de aplicações. Algumas fases comerciais e principais aplicações são apresentadas na Tabela 2 (Pinto e Queiroz, 2015).

Tabela 2: Diferentes fases extratoras disponíveis comercialmente para a DPX com diferentes usos e volumes (Adaptado de Pinto e Queiroz, 2015; DPX Technologies).

Tipos de Ponteiras		Tipo de Fase	Uso
DPX-RP	1 mL (30 mg), 5 mL (60 mg)	Estireno- Divinilbenzeno	Adsorção de compostos apolares e pouco polares.
DPX-CX	1 mL (20 mg), 5 mL (60-100 mg)	Grupos Ácidos- Sulfônicos	Adsorção de compostos básicos.
DPX-WAX	1 mL (20-30 mg), 5 mL (60 mg)	Grupos Poliamino	Interação com compostos ácidos.
DPX-WCX	1 mL (30 mg), 5 mL (60 mg)	Grupos Policarboxilato	Adsorção de compostos básicos.
DPX-Si	1 mL (30-100 mg), 5 mL (50-250 mg)	Sílica Gel	Limpeza de amostras ambientais.
DPX-C18	1 mL (30-100 mg), 5 mL (50-250 mg)	C18 (20% Sílica Gel)	Remoção de interferentes da matriz.
DPX-SC	1 mL	Vazio ou com Areia (lavada com Ácido)	Coleta de amostras sólidas.
DPX-Blank	1 ou 5 mL	-	Aplicação de novos sorventes para diferentes compostos.

Apesar de existirem poucas fases comerciais disponíveis, além dos benefícios já citados, a DPX apresenta a versatilidade na escolha do sorvente possibilitando o desenvolvimento de novas fases utilizando a DPX-Blank. Essas fases alternativas têm por objetivo apresentar vantagens frente às comercialmente utilizadas, como serem seletivas a

uma maior gama de compostos, possuem um maior custo benefício e melhorar a eficiência de extração, tornando o método mais rápido para se atingir o equilíbrio. Além disso, podem levar a diminuição dos limites de detecção e quantificação, serem reprodutíveis e aumentar a vida útil dos dispositivos, utilizando materiais com melhores resistências químicas, físicas e mecânicas (Corazza et al., 2017; Chaves et al., 2015; Ocaña-González et al., 2016). Um tipo de fase extratora que pode ser utilizada como alternativa às citadas na Tabela 2 são os biossorventes.

2.4 BIOSSORVENTES

Biossorventes são de origem natural formados por macromoléculas que possuem grupos funcionais em suas estruturas que podem interagir com diversos compostos por meio de diferentes interações físico-químicas, como sorção, complexação ou troca iônica. Os biossorventes são materiais provenientes da biomassa, que têm origem animal, vegetal ou microbiana, derivados de ações naturais ou artificiais (Monteiro, 2009; Dias et al., 2013).

Estes materiais ganharam grande importância dentro da química analítica devido às propriedades que eles apresentam, como grande capacidade sortiva, estabilidade química e física satisfatória, aspectos ecologicamente ambientáveis e baixo custo. Partindo-se dessas características, os biossorventes atraíram interesse na aplicação em técnicas de extração/microextração como uma alternativa eficiente aos sorventes disponíveis comercialmente (Ramrakhian et al., 2017).

Existem muitas categorias para os biossorventes, incluindo a lignocelulose que é o polímero natural mais abundante proveniente de plantas e os biopolímeros quitina e quitosana, sendo o primeiro o maior constituinte do exoesqueleto de artrópodes e o segundo a forma desacetilada da quitina. Algas, lodo ativado, entre outros também se enquadram como biossorventes. Dentre as classes citadas, se destaca a lignocelulose, que apresenta uma propriedade interessante, capaz de interagir com poluentes orgânicos. Isto é possível devido a composição de sua estrutura, tanto química quanto física, e o principal componente presente neste tipo de biossorvente é a lignina. A lignina e a suberina compõem a maior parte da cortiça utilizada como biossorvente (Huang et al., 2017; Patil e Nanduri, 2017; Tran et al., 2015; Gao et al., 2017; Olivellá et al., 2013).

2.5 CORTIÇA

A cortiça é um material natural, possuindo em sua estrutura uma gama de compostos, principalmente a suberina e a lignina, mas contendo alguns polissacarídeos sendo a celulose e a hemicelulose, ceras e outros extrativos. De acordo com a região em que se obtém a cortiça, a variação da porcentagem que esses compostos apresentam em sua estrutura mudam, e um estudo reportado na literatura acerca da composição da cortiça em diferentes regiões, foi realizado e é apresentado na Tabela 3 (Olivellá et al., 2013).

Tabela 3: Composição química da cortiça em diferentes amostras (Adaptado de Olivellá et al., 2013).

Amostra ^a	Parte ^b	Composição Química (%)			
		Suberina	Lignina	Polissac.	Extrativos
A	B	40.7	23.9	8.6	11.8
	C	41.7	13.4	7.4	19.7
B	B	21.1	27.9	10.1	12
	C	33.5	31.0	2.5	12.6
C	B	33.8	25.1	12.6	13
	C	48.7	22.7	10.3	11.7

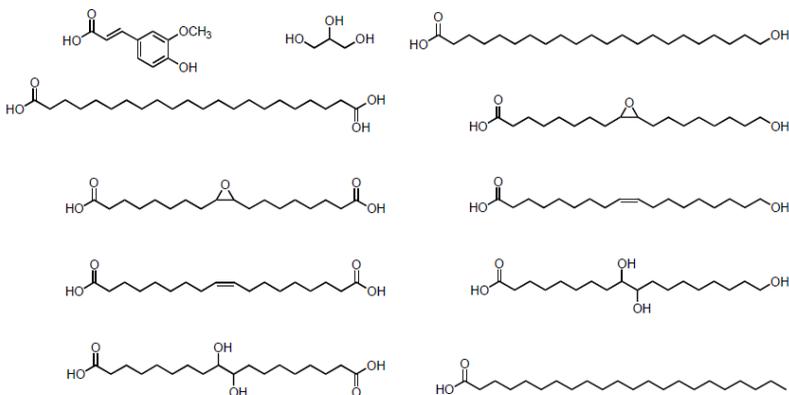
^a Três amostras desconhecidas obtidas de três origens diferentes.

^b Estudo realizado em duas partes da cortiça, sendo B a parte da casca externa e C a parte intermediária da cortiça.

De acordo com a Tabela 3, a suberina apresenta a maior porcentagem da composição da cortiça, constituindo cerca de 40%, seguida da lignina que está numa faixa de 13 a 23%, polissacarídeos em aproximadamente 10% e outros extrativos em torno de 13%. Outras caracterizações já foram realizadas, como ressonância magnética nuclear (RMN) e infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) que indicam a presença de grupos -CO, -OH e -CH e confirmam a presença destes compostos em sua estrutura (Neto et al., 1995).

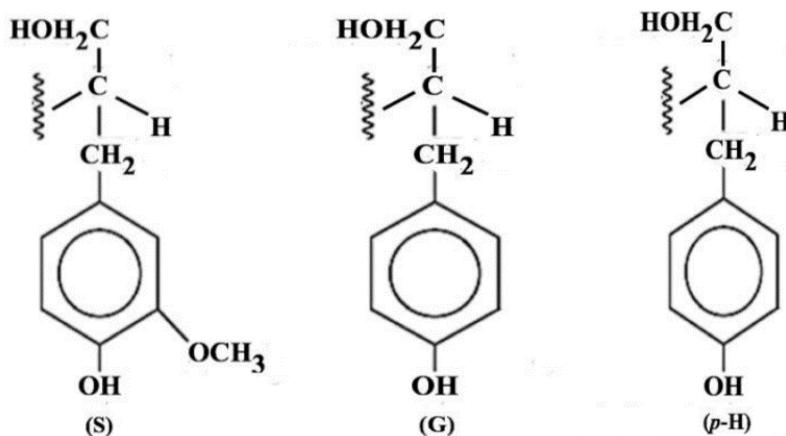
A cortiça é proveniente principalmente da árvore *Quercus Suber L*, sendo obtida de sua casca, e nesta, a suberina presente é um conjunto de monômeros que constituem uma rede de poliésteres alifáticos ligados covalentemente a uma matriz fenólica. Essas duas macromoléculas, suberina e lignina, proporcionam uma característica hidrofóbica à cortiça, e a combinação delas é apontada como a principal fonte de sorção de compostos orgânicos. Alguns monômeros constituintes da rede polimérica da suberina estão apresentados na Figura 3 (Olivellá et al., 2013; Neto et al., 1995; Gallardo-Chacón e Karbowskiak, 2015; De Oliveira et al., 2017).

Figura 3: Monômeros presentes na estrutura da suberina (Autoria Própria).



O outro principal componente, a lignina, é o segundo maior componente orgânico com abundância na natureza após a celulose e, por ser um material barato e fácil de se adquirir, tem importante valorização tanto na indústria quanto no meio científico. Esse polímero fenólico é encontrado estando de forma ligada covalentemente à hemicelulose e de forma reticulada à diferentes polissacarídeos presentes nas plantas, conferindo uma proteção mecânica às paredes celulares das plantas e protegendo as mesmas de fatores externos. A composição da lignina se dá por três principais unidades com base no fenilpropano (C₆-C₃), sendo o siringil álcool (S), guaiacil álcool (G) e o álcool *p*-hidroxílico (*p*-H). As estruturas referentes a esses compostos estão apresentadas na Figura 4 (Ke e Chun, 2013; Sathawong et al., 2018).

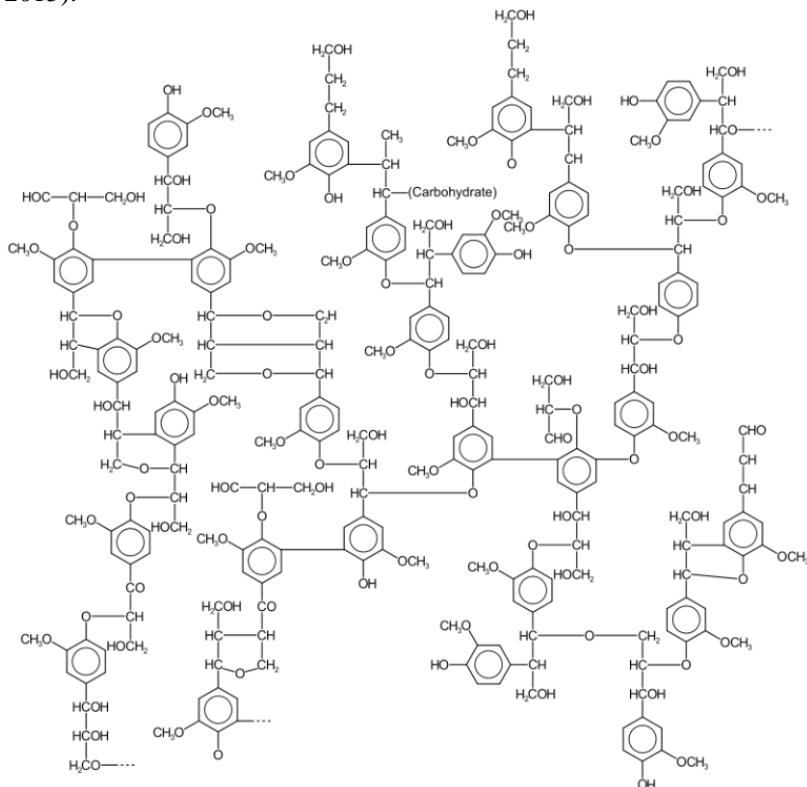
Figura 4: Estrutura do siringil álcool (S), guaiacil álcool (G) e o álcool p-hidroxílico (p-H) (Adaptado de Sathawong et al., 2018).



A lignina pode ser obtida através da produção de biodiesel como um subproduto e como produto da celulose, sendo aplicada principalmente na indústria de plásticos, como aditivo de misturas de concretos, alimentos animais, em catálises, em colas, na formação de hidrogéis orgânicos e até mesmo na produção de energia. A estrutura química e as propriedades físico-químicas da lignina são dependentes principalmente do modo como ela é extraída, seja por diferentes tecnologias como método Kraft, sulfatos ou explosão de vapor, entretanto a estrutura mais comum da lignina está apresentada na Figura 5 (Sathawong, 2018; Podolyák, 2018).

Como é possível observar na estrutura da Figura 5, a lignina apresenta uma cadeia polimérica com diferentes grupos como anéis aromáticos e polares, sendo estes caracterizados por grupos hidroxila, cetonas, aldeídos, éter, entre outros. A presença destes grupos funcionais permite a lignina fazer interações do tipo π - π pelos elétrons desemparelhados presentes nos anéis e ligação de hidrogênio pelos oxigênios, com diferentes compostos orgânicos (Olivellá et al., 2015).

Figura 5: Estrutura da rede polimérica da lignina (Adaptado de Souto, 2015).



Além de uma composição heterogênea, a cortiça é um material de elevada porosidade, apresentando partículas com tamanho médio de 125 a 250 μm , com uma estrutura em formato de favo de mel, sendo uma representação da disposição da cortiça em três diferentes seções, radial, transversal e tangencial apresentada na Figura 6 e uma microscopia eletrônica de varredura apresentando a distribuição da superfície da cortiça apresentada na Figura 7 (Fernandes et al., 2015; Barbosa et al., 2017).

Figura 6: Representação da disposição das células da cortiça e três diferentes seções (Adaptado de Gil, 1993).

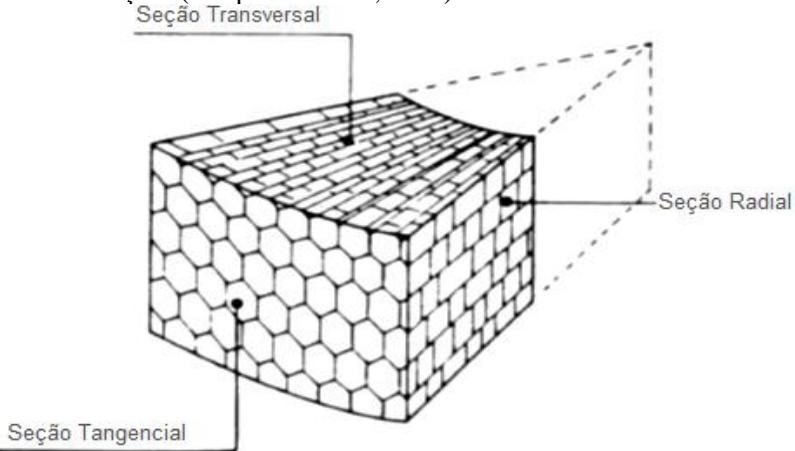
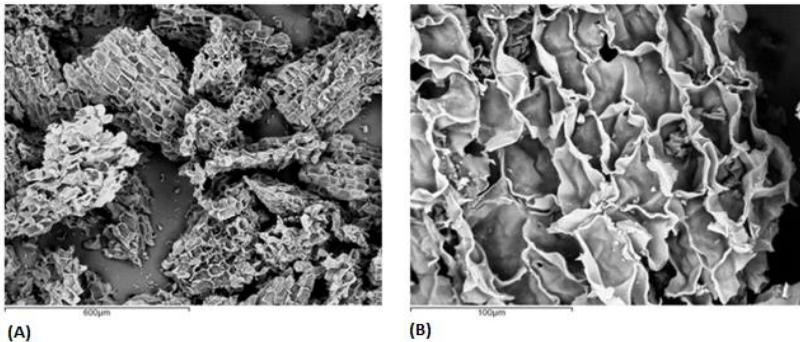


Figura 7: Microscopia eletrônica de varredura (MEV) da superfície de partículas da cortiça, sendo em (A) 600 μm e (B) 100 μm (Adaptado de Barbosa et al., 2017).



A aplicação da cortiça é vasta, sendo um de seus usos na fabricação de rolhas para engarrafamento de bebidas, principalmente para vinhos, e apresenta diversas propriedades interessantes como sendo um material leve, viscoelástico, impermeável a muitos líquidos e gases, bom isolante térmico, acústico e elétrico, além disso, é natural, renovável e biodegradável (Olivella et al., 2012; Fernandes et al., 2015). Muitos estudos já foram realizados, principalmente para remoção de algas

poluentes em meios aquosos, como hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA), bifentrina e alfa-cipermetrina (Olivellá et al., 2011; Domingues et al., 2005; Domingues et al., 2007). Esse biossorvente foi introduzido pelo nosso grupo de pesquisa em 2013 em técnicas de microextração e desde então diversas metodologias foram desenvolvidas para determinação de uma vasta gama de compostos orgânicos, como pode ser visto na Tabela 4.

Tabela 4: Aplicações da cortiça em diferentes técnicas de preparo de amostras, em diferentes matrizes e compostos.

Técnica	Matriz	Compostos	Referência
SPME	Água de Rio	13 HPA	Dias et al., 2013
SPME	Água de Rio	Pesticidas Organoclorados	Dias et al., 2015
BA μ E	Água de Lago	Metil e Etil Parabeno, Benzofenona e Triclocarban	Dias et al., 2015
BA μ E	Urina	Hexanal e Heptanal	Oenning et al., 2017
TFME	Água de Rio	Etil Parabeno, Bisfenol A, 4-MBC e Triclocarban	Morés et al., 2018

Como já apresentado em diversos trabalhos e devido à sua composição, tanto química quanto física, a cortiça se apresenta como um biossorvente muito atrativo para o desenvolvimento de novas metodologias analíticas no emprego do preparo de amostras. Além disso, é um material ecológico, estando de acordo com conceitos da química verde e podendo ser aplicado no estudo relacionado a sorção de muitos compostos orgânicos, como alguns contaminantes emergentes de interesse neste estudo.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolvimento de uma metodologia analítica empregando um material natural e biodegradável, a cortiça, como fase extratora alternativa para a técnica de extração em ponteira descartável (DPX) para a determinação de cinco contaminantes emergentes em amostras de águas de lagos, com separação e detecção por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a um detector por arranjo de diodos (HPLC-DAD).

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Otimização da separação e detecção dos analitos com um gradiente de solvente no HPLC-DAD;
- Otimização dos parâmetros do método de DPX, dividindo-se em:
 - tipo de solvente, tempo, ciclo e volume para a etapa de dessorção;
 - tempo, efeito *salting out* e massa de cortiça para a etapa de extração;
- Otimização de uma etapa de limpeza entre cada experimento;
- Determinação dos parâmetros de mérito, sendo LOD, LOQ, R, faixa linear e equação da reta;
- Determinação das recuperações relativas e precisões intradia e interdia;
- Aplicação do método desenvolvido em uma amostra de água da Lagoa da Conceição;
- Realização de um teste de estabilidade das ponteiras de DPX com cortiça;
- Realização do teste de robustez de Youden e análise dos gráficos de Lenth's e Daniel.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 REAGENTES E MATERIAIS

Neste estudo, os padrões analíticos de metilparabeno (MP) (99,0%), etilparabeno (EtP) (99,0%), benzofenona (BZP) (99,0%), 3-(4-metilbenzilideno) cânfora (4-MBC) (98,0%) e 2-(etilhexil)-4-(dimetilamino) benzoato (OD-PABA) (99,0%) foram adquiridos da Sigma Aldrich (St. Louis, MO, EUA). Uma solução de trabalho foi preparada com uma mistura de cada analito em concentração de 2 mg L⁻¹ em metanol (MeOH) (99,95%) obtido da J.T. Baker (Mallinckrodt, NJ, EUA). A acetonitrila (ACN) de grau cromatográfico (99,9%) foi obtida da J.T. Baker (Mallinckrodt, NJ, EUA) e a água ultrapura a partir de um sistema de purificação de água (Mega Pureza, Billerica, EUA). O efeito *salting-out* foi avaliado com a adição de cloreto de sódio (NaCl) (99,0%) obtido da Dinâmica Química Contemporânea (São Paulo, Brasil). A extração foi realizada em uma ponteira DPX-Blank descartável de 1 mL (DPX Labs, Columbia, SC, EUA) e a dessorção foi realizada em frascos de 1 mL.

4.2 INSTRUMENTAÇÃO

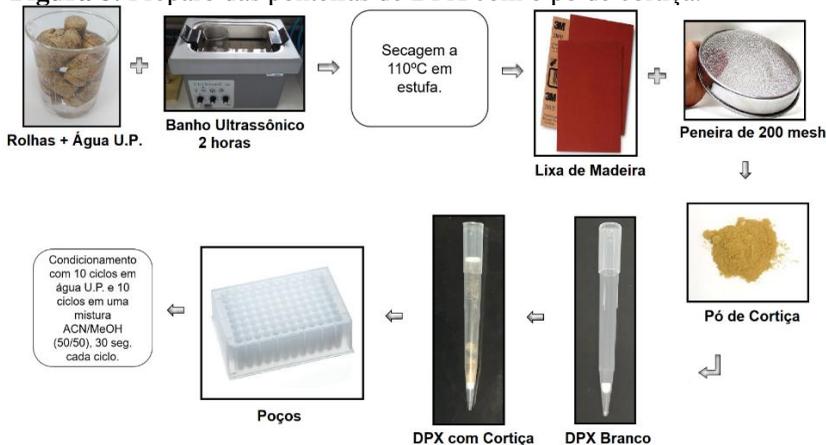
As análises foram realizadas em um cromatógrafo líquido, modelo LC 20 AT da Shimadzu (Kyoto, Japão), equipado com um detector de arranjo de diodos, modelo SPD-M20A, com loop de 20 µL e injetor manual Rheodyne 7725i (Rohnert Park, CA, EUA). Uma coluna C18 (250 mm de comprimento x 4,6 mm de diâmetro interno e espessura de filme de 5 µm) da Thermo (EUA) foi usada para separação cromatográfica. O fluxo de fase móvel foi de 1 mL min⁻¹ empregado no modo gradiente usando acetonitrila (A) e água ultrapura (B) nas seguintes condições: 50% da fase móvel A de 0 a 4 minutos; de 4 a 10 minutos a fase móvel A foi aumentada para 80% e esta composição foi mantida de 10 a 20 minutos; de 20 a 25 minutos a fase móvel A foi reduzida para 50%; de 25 a 30 minutos a condição inicial foi retomada. Os comprimentos de onda usados para as detecções foram ajustados em 254 nm para MP, EtP e BZP, 298 nm para 4-MBC e 310 nm para o OD-PABA. O software do LC solution (Shimadzu, Kyoto, Japão) foi utilizado para avaliar os dados obtidos. Uma microseringa Hamilton (Reno, Nevada, EUA) de 100 µL foi utilizada para injeção manual no

cromatógrafo e um micropipetador manual de 100-1000 μL da Kasvi (China) e poços de polipropileno de 2 mL (Axygen Scientific, CA, USA) foram utilizados para se realizar a técnica de DPX. Para medida da salinidade da amostra de lago da Lagoa da Conceição, foi utilizado um Fonte: Autorial própria (2018).

4.3 PREPARO DAS PONTEIRAS DE DPX COM CORTIÇA

A cortiça foi preparada segundo Dias, 2015. Rolhas de vinhos descartáveis foram obtidas de estabelecimentos comerciais na cidade de Florianópolis, SC, Brasil. Para limpeza, inicialmente as rolhas foram lavadas em água ultrapura por um período de 2 horas com auxílio de banho ultrassônico. Este processo foi repetido diversas vezes até a coloração da água descartada apresentar-se transparente. Em seguida, as rolhas foram colocadas em estufa para secagem, durante 12 horas a 110 $^{\circ}\text{C}$. Após, utilizando uma lixa de madeira as rolhas foram lixadas e o material obtido foi peneirado em uma peneira com granulometria de 200 mesh, obtendo-se o pó de cortiça. Esse pó foi adicionado em uma certa quantidade na ponteira de DPX branco e foi selado com um filtro, onde este, por sua vez, foi condicionado utilizando 10 ciclos de 800 μL cada de água ultrapura e 10 ciclos de 100 μL cada em uma mistura de metanol 50% e acetonitrila 50%. Cada ciclo foi realizado em um tempo de 30 segundos sendo alternado entre a água e a mistura de solventes. Na Figura 8 encontra-se o esquema de preparo e condicionamento das ponteiras com a fase extratora.

Figura 8: Preparo das ponteiras de DPX com o pó de cortiça.



4.4 OTIMIZAÇÃO DO PROCEDIMENTO DA DPX

Os procedimentos foram realizados com 800 μL de água ultrapura fortificada com 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ de cada analito em uma ponteira de 1 mL. Os ensaios foram realizados usando a mesma alíquota para cada experimento. Para a etapa de extração, o pH foi mantido em 6,00 e alguns parâmetros foram selecionados para o estudo. Para a avaliação da massa de cortiça foram testados 5,0; 7,5; 10; 20 e 30 mg. O número de ciclos de extração variou de 1 a 5. Ambos estudos foram feitos de forma univariada. A avaliação do efeito *salting-out* e tempo de extração para cada ciclo foram realizados de forma multivariada pelo planejamento Doehlert, sendo apresentadas na Tabela 5 as faixas trabalhadas para ambas as variáveis.

Tabela 5: Tabela dos experimentos utilizados no planejamento Doehlert.

Experimento	Tempo de Extração	Sal (g/100mL)
1	120 seg	18,0
2	90 seg	30,0
3	30 seg	18,0
4	60 seg	0
5	90 seg	0
6	60 seg	30,0
7,8,9	75 seg	18,0

Para a etapa de dessorção foram avaliados o número de ciclos (até 4 ciclos), tempo para cada ciclo (15, 30, 45 e 60 segundos) e volume do solvente em 3 níveis (100, 150 e 200 μL). Estas variáveis foram avaliadas de forma univariada. A escolha do solvente ou mistura de solventes (metanol, acetonitrila e água ultrapura) foi obtida através do planejamento de superfície ternária, sendo as proporções e os experimentos apresentados na Tabela 6. Além disto, uma etapa de

limpeza também foi realizada ao final de cada experimento. Tanto os modelos multivariados como os univariados, empregados nas otimizações e as análises, foram realizadas no software Statsoft Statistica 8.0 (Statsoft, EUA) e Microsoft Excel 2016 (EUA).

Tabela 6: Experimentos realizados para estudo do solvente de desorção.

Exp.	H ₂ O U.P. (v/v)	MeOH (v/v)	ACN (v/v)
1	1,0000	0,0000	0,0000
2	0,0000	1,0000	0,0000
3	0,0000	0,0000	1,0000
4	0,5000	0,5000	0,0000
5	0,5000	0,0000	0,5000
6	0,0000	0,5000	0,5000
7	0,6667	0,1667	0,1667
8	0,1667	0,6667	0,1667
9	0,1667	0,1667	0,6667
10,11,12	0,3333	0,3333	0,3333

4.5 FIGURAS DE MÉRITO E APLICAÇÃO DO MÉTODO

As figuras analíticas de mérito foram obtidas através de curvas de calibração externa em água ultrapura em oito níveis de concentração, com análises realizadas em triplicata. Os parâmetros avaliados foram limite de detecção (LOD), limite de quantificação (LOQ), faixa linear de trabalho, coeficiente de correlação linear (R), recuperação relativa e precisões intradia e interdia. O LOD foi calculado utilizando 3 vezes o desvio padrão da primeira concentração da curva de calibração para cada analito, dividido pela inclinação da curva de calibração. O LOQ foi calculado utilizando 10 vezes o desvio padrão da primeira concentração da curva de calibração para cada analito, dividido pela inclinação da curva de

calibração (ICH, 2005). Os ensaios de recuperação relativa e as precisões intradia e interdia foram avaliados utilizando uma amostra de água de lago e realizando-se a extração em três concentrações conhecidas (análises em triplicata) para MP (5, 97,5 e 200 $\mu\text{g L}^{-1}$), EtP (4, 98 e 200 $\mu\text{g L}^{-1}$), e para BZP, 4-MBC e OD-PABA (5, 72,5 e 150 $\mu\text{g L}^{-1}$). A amostra de água de lago foi coletada na Lagoa da Conceição, em Florianópolis, SC, e armazenada em frasco âmbar e selada a 4 °C até o momento da análise.

4.6 ESTABILIDADE DAS PONTEIRAS DE DPX

Foi realizado um teste para se avaliar a estabilidade das ponteiras de DPX com cortiça para que estas fossem reutilizadas mais de uma vez sem perder a sua eficiência de extração. Foi utilizada uma mesma ponteira, após serem realizadas as otimizações do método e a validação, sendo aplicada uma ponteira com cortiça em 1, 10 e 15 ciclos completos, considerando a extração, dessorção e etapa de limpeza em cada ciclo de experimentos.

4.7 TESTE DE ROBUSTEZ

Um teste de robustez foi realizado utilizando-se o método de Youden (Karageorgou e Samanidou, 2014). Foram selecionadas 7 variáveis otimizadas no método, sendo a quantidade de sal, volume de amostra e de solvente de dessorção, massa de cortiça, ciclos de extração e dessorção, e a proporção entre a mistura de solventes de dessorção, com variação mínima dos valores, onde a alteração aplicada a cada variável está apresentada na Tabela 7.

Posteriormente à escolha dos parâmetros e da variação determinada, uma tabela foi construída para combinação destes parâmetros, gerando os efeitos entre a condição nominal e a variação apresentada na Tabela 8. Conforme os efeitos estabelecidos, uma tabela de combinações fatoriais é apresentada na Tabela 9, onde os valores que foram variados para valores maiores que as condições nominais são estabelecidas como sendo 1 e os valores menores como -1, transcrevendo a matriz, onde as linhas viram colunas e vice-versa.

Foram construídos dois gráficos a partir desse método, o gráfico de Lenth's e de Daniel, e a partir destes resultados avaliou se os parâmetros teriam uma influência significativa nos resultados. Para

realização de todo o procedimento, utilizou-se os softwares Microsoft Excel 2016 e o Action Stat 3.

Tabela 7: Parâmetros selecionados para realização do teste de Youden.

Efeito	Condição Nominal		Variação	
% de Sal	30%	A	28%	a
Ciclo de Ext.	3	B	4	b
Ciclo de Des.	1	C	2	c
Solvente de Des.	50%	D	60%	d
Vol. De Amos.	800	E	820	e
Vol. De Dess.	100	F	120	f
Massa de Cortiça	5mg	G	6mg	g

Tabela 8: Combinação entre os parâmetros da condição nominal e da variação escolhida.

Efeito	Combinação de Parâmetros							
	Exp. 1	Exp. 2	Exp. 3	Exp. 4	Exp. 5	Exp. 6	Exp. 7	Exp. 8
A/a	A	A	A	A	a	a	a	a
B/b	B	B	b	b	B	B	b	b
C/c	C	c	C	c	C	c	C	c
D/d	D	D	d	d	d	d	D	D
E/e	E	e	E	e	e	E	e	E
F/f	F	f	f	F	F	f	f	F
G/g	G	g	g	G	g	G	G	g

Tabela 9: Combinação fatorial entre os parâmetros selecionados e os efeitos determinados.

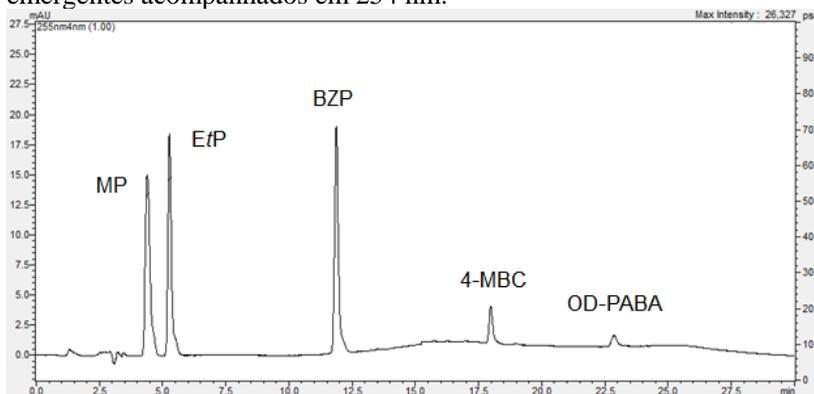
Combinação Fatorial	A	B	C	D	E	F	G
	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7
Exp. 1	1	-1	-1	-1	-1	-1	-1
Exp. 2	1	-1	1	-1	1	1	1
Exp. 3	1	1	-1	1	-1	1	1
Exp. 4	1	1	1	1	1	-1	-1
Exp. 5	-1	-1	-1	1	1	-1	1
Exp. 6	-1	-1	1	1	-1	1	-1
Exp. 7	-1	1	-1	-1	1	1	-1
Exp. 8	-1	1	1	-1	-1	-1	1

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 SEPARAÇÃO CROMATOGRÁFICA

Inicialmente, foi feita a separação cromatográfica dos cinco analitos a partir de uma solução trabalho de 2 mg L⁻¹ preparada em metanol. Foi empregado um gradiente de solvente entre acetonitrila e água ultrapura conforme descrito na seção 4.2, totalizando 30 minutos. A separação cromatográfica dos compostos está apresentada na Figura 9.

Figura 9: Cromatograma da separação dos cinco contaminantes emergentes acompanhados em 254 nm.



Pelo cromatograma pode-se concluir que houve uma boa separação dos compostos, sendo um tempo de 4,5 min para o MP, 5,5 min para o EtP, 11,0 min para o BZP, 18,0 min para o 4-MBC e 23,0 para o OD-PABA. Além disso, nenhuma interferência foi observada, portanto, prosseguiu-se com as otimizações do método.

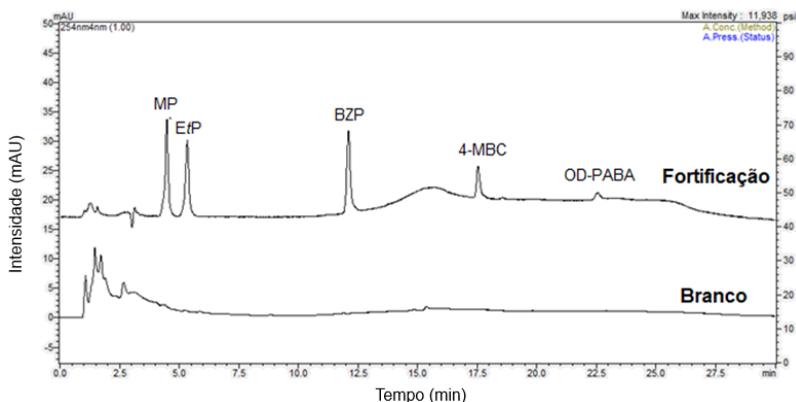
5.2 OTIMIZAÇÕES DO MÉTODO

5.2.1 Branco da Cortiça e Extração

Um branco da cortiça foi realizado para verificar se picos poderiam causar interferências para a análise e determinação dos analitos. Foi aplicado o condicionamento de 10 ciclos com uma mistura de 50% de ACN e 50% de MeOH (v/v) de 30 segundos cada e 10 ciclos com água ultrapura de 30 segundos cada, sendo estes ciclos realizados de forma

alternada. Posterior a isto, também foi realizada uma extração para verificar se a cortiça extraía os analitos selecionados para o trabalho. Condições pré-estabelecidas foram utilizadas para realizar estes procedimentos, sendo na Figura 10 apresentado um comparativo entre o branco da cortiça e uma fortificação de 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ dos analitos em água ultrapura.

Figura 10: Comparação entre os cromatogramas do branco e de uma fortificação realizada com a cortiça na ponteira de DPX acompanhado em 254 nm (*Condições: pH mantido em 6,00, sem adição de sal, 1 min. e 3 ciclos de extração, 20 mg de cortiça, 800 μL de amostra, 1 min. e 1 ciclo de dessorção, 200 μL de uma mistura de solventes ACN:MeOH 50:50 (v/v)).

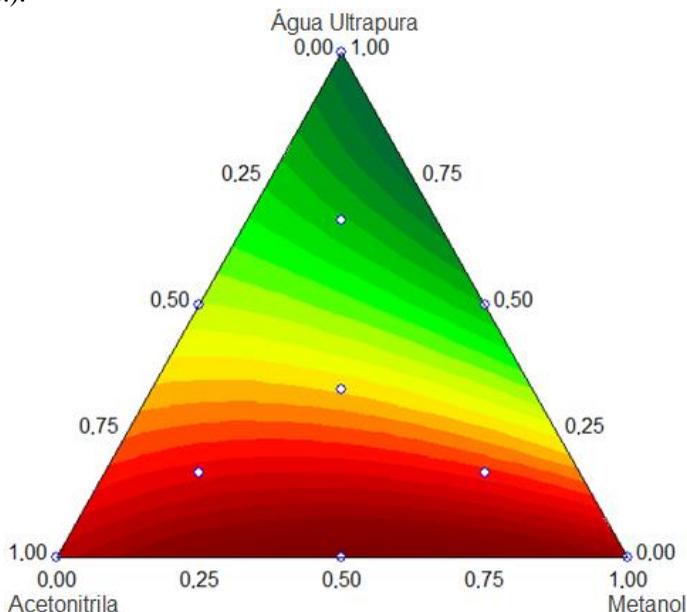


De acordo com os resultados, é possível se verificar que não há picos interferentes nos tempos de retenção dos analitos, além disso, todos os analitos foram extraídos, portanto, deu-se continuidade as otimizações do método.

5.2.2 Otimização do Solvente de Dessorção

Nessa etapa, um método multivariado de superfície ternária foi utilizado para realizar a escolha do melhor solvente de dessorção (ACN, MeOH e H₂O U.P.), os quais foram selecionados de acordo com a compatibilidade com o instrumento do HPLC. Foram realizados 12 experimentos e utilizando a média geométrica das áreas dos picos cromatográficos foi gerada a superfície apresentada na Figura 11.

Figura 11: Superfície ternária obtida para a escolha do melhor solvente de dessorção (*Condições: fortificação de $100 \mu\text{g L}^{-1}$ dos analitos, pH mantido em 6,00, sem adição de sal, 1 min. e 3 ciclos de extração, 20 mg de cortiça, $800 \mu\text{L}$ de amostra, 1 min. e 1 ciclo de dessorção, $200 \mu\text{L}$ de solvente.).



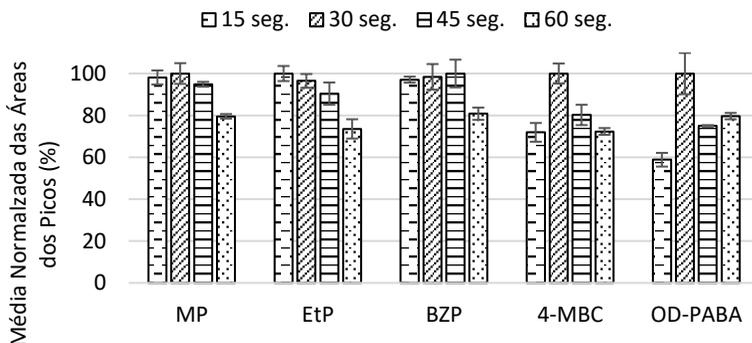
A superfície obtida é um Simplex-Centroides, construída a partir de uma função quadrática e forneceu um R^2 igual a 0,9652. Baseado nos resultados, é possível perceber que a região próxima a água ultrapura apresenta resultados mais baixos. Entretanto, na região entre o metanol e a ACN os resultados apresentaram maiores respostas, devido às interações químicas serem mais efetivas com os analitos. Desta forma, uma mistura entre estes dois solventes numa proporção de 50%:50% (v/v) de cada foi escolhida para os experimentos posteriores.

5.2.3 Otimização do Tempo de Dessorção

A partir da escolha do solvente de dessorção, foi estudado o tempo necessário para a dessorção dos analitos baseando-se em um ciclo de dessorção. Foram estudados 4 tempos de dessorção, entre 15 e 60 segundos. No gráfico de barras apresentado na Figura 12 estão

apresentados os resultados utilizando-se a média normalizada das áreas dos picos para cada analito.

Figura 12: Gráfico de barras obtido para os diferentes tempos de dessorção estudados (*Condições: fortificação de $100 \mu\text{g L}^{-1}$ dos analitos, pH mantido em 6,00, sem adição de sal, 1 min. e 3 ciclos de extração, 20 mg de cortiça, 800 μL de amostra, 1 ciclo de dessorção, 200 μL de solvente ACN:MeOH 50:50 (v/v)).

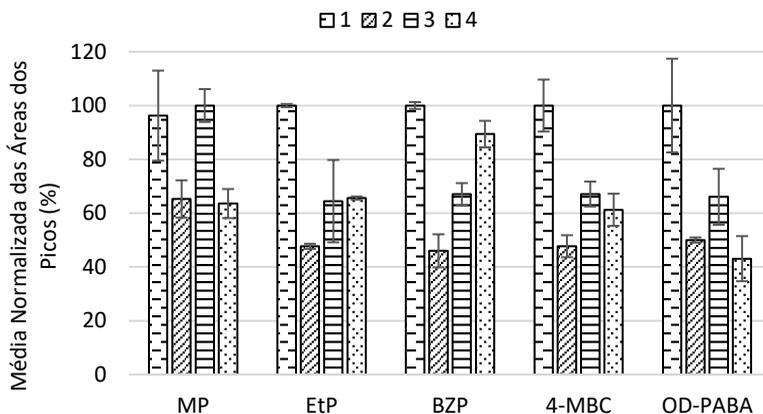


Partindo-se dos resultados obtidos é possível determinar que o tempo de 30 segundos apresentou respostas iguais ou melhores que os demais. Portanto, foi fixado o tempo de 30 segundos por apresentar a melhor resposta compromisso para os 5 compostos.

5.2.4 Otimização do Número de Ciclos de Dessorção

O número de ciclos pode influenciar na eficiência com que os analitos migram da fase extratora para o solvente de dessorção, sendo assim essa etapa se faz importante para garantir que o efeito de memória seja minimizado ou nulo durante os experimentos. Nessa otimização, as duas condições anteriormente determinadas foram aplicadas e avaliou-se de 1 a 4 ciclos de dessorção utilizando-se a mesma alíquota em cada ciclo. As respostas cromatográficas foram analisadas e o gráfico de barras obtido está apresentado na Figura 13.

Figura 13: Gráfico de barras obtido estudando-se os 4 ciclos de dessorção (*Condições: fortificação de $100 \mu\text{g L}^{-1}$ dos analitos, pH mantido em 6,00, sem adição de sal, 1 min. e 3 ciclos de extração, 20 mg de cortiça, $800 \mu\text{L}$ de amostra, 30 s de dessorção, $200 \mu\text{L}$ de solvente ACN:MeOH 50:50 (v/v)).

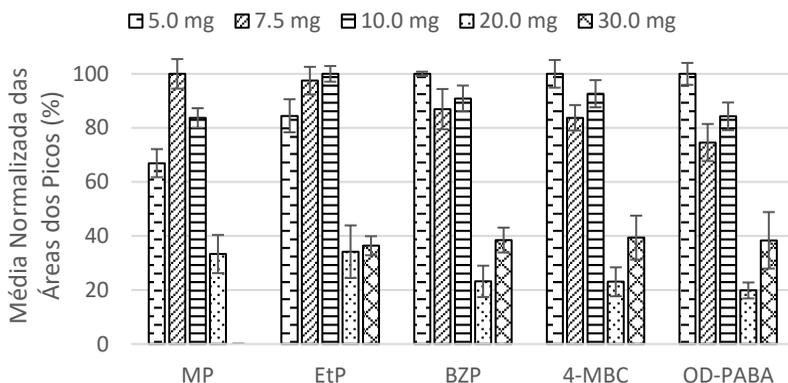


De acordo com a Figura 13, apenas 1 ciclo foi necessário para se atingir a melhor resposta. De 2 a 4 ciclos, na maioria dos casos, as respostas cromatográficas foram menores. Esse comportamento pode ser explicado devido a possibilidade de ocorrer uma retro-extração dos analitos inicialmente dessorvidos usando um maior número de ciclos. Provavelmente, a cortiça pode apresentar muitos sítios disponíveis para interagir novamente com os analitos, uma vez que a DPX apresenta uma alta taxa de transferência de massa dos analitos para a fase extratora. Sendo assim, 1 ciclo foi escolhido como condição ótima para a dessorção.

5.2.5 Otimização da Massa de Cortiça

A massa de sorvente é um parâmetro importante que influencia na quantidade de analitos extraídos. Particularmente, para abordagens de DPX, essa quantidade deve ser otimizada para permitir uma mistura dinâmica entre a fase sorvente e a amostra aquosa. Nessa etapa, massas entre 5,0 e 30,0 mg de cortiça foram avaliados, em triplicata. Os resultados são apresentados no gráfico de barras da Figura 14, em que é representada a área do pico cromatográfico normalizado dos analitos obtidos utilizando cada massa.

Figura 14: Gráfico de barras obtido para a massa de cortiça adicionada na ponteira de DPX (*Condições: fortificação de $100 \mu\text{g L}^{-1}$ dos analitos, pH mantido em 6,00, sem adição de sal, 1 min. e 3 ciclos de extração, $800 \mu\text{L}$ de amostra, 30 s e 1 ciclo de dessorção, $200 \mu\text{L}$ de solvente ACN:MeOH 50:50 (v/v)).

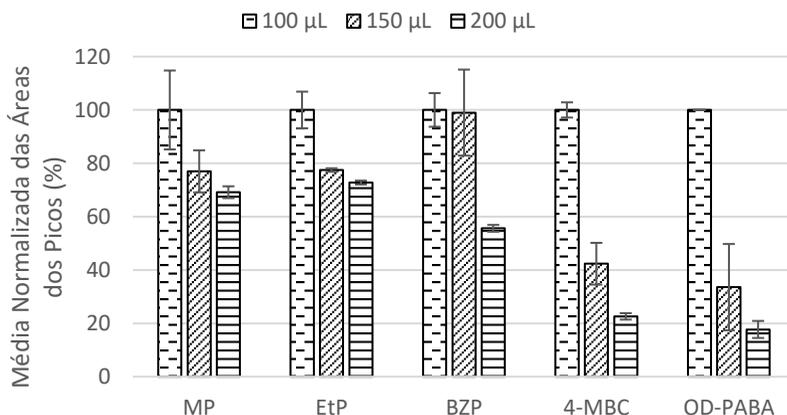


Massas de 5,0 mg e 7,5 mg apresentaram respostas analíticas muito satisfatórias. Os melhores resultados foram obtidos com 5,0 mg para BZP, 4-MBC e OD-PABA e 7,5 mg para MP e EtP. Os resultados obtidos não foram satisfatórios utilizando massas superiores a 10,0 mg, uma vez que a cortiça é um material hidrofóbico que dificulta a mistura dinâmica da fase sorvente na matriz aquosa. Portanto, uma massa de 5,0 mg foi escolhida como condição otimizada para os próximos experimentos.

5.2.6 Otimização do Volume de Dessorção

Após a otimização da massa da cortiça ser reduzida de 20,0 mg para 5,0 mg, avaliou-se a possibilidade de se reduzir o volume de dessorção a fim de aumentar a pré-concentração dos analitos. Nesse estudo, 100, 150 e $200 \mu\text{L}$ de solvente de dessorção foram testados, sendo este último utilizado nos experimentos anteriores. Na Figura 15 está apresentado o gráfico de barras obtido para os três volumes.

Figura 15: Gráfico de barras obtido para otimização do volume de solvente de dessorção (*Condições: fortificação de $100 \mu\text{g L}^{-1}$ dos analitos, pH mantido em 6,00, sem adição de sal, 1 min. e 3 ciclos de extração, $800 \mu\text{L}$ de amostra, 30 s e 1 ciclo de dessorção, solvente ACN:MeOH 50:50 (v/v)).

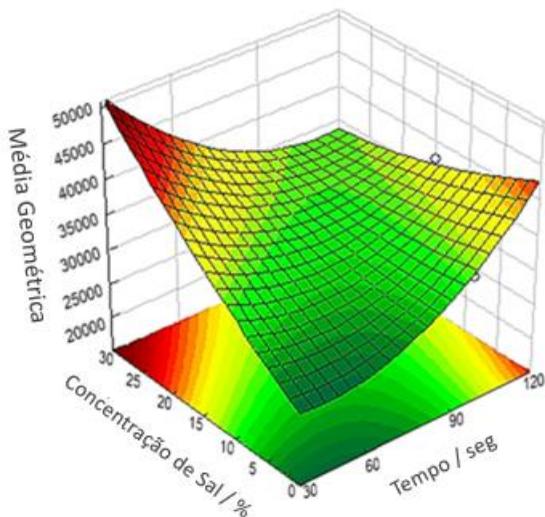


De acordo com a reposta cromatográfica obtida no gráfico, a redução do volume do solvente de dessorção aumentou as respostas analíticas dos analitos, indicando uma maior pré-concentração dos mesmos. Além disso, o volume de $100 \mu\text{L}$ é o menor volume necessário para cobrir toda a fase extratora, portanto, este foi fixado para os experimentos posteriores.

5.2.7 Otimização do Tempo de Extração vs Adição de Sal (NaCl)

Realizou-se um planejamento multivariado *Doehlert* para se avaliar a influência entre o tempo de extração e a o efeito *salting out* com a adição de NaCl. Nesse estudo foram realizados 9 experimentos onde variou-se o tempo de extração de 30 a 120 segundos e a quantidade de sal adicionada de 0 a 30% NaCl. A partir dos experimentos realizados foi obtida uma superfície resposta apresentada na Figura 16.

Figura 16: Superfície resposta obtida pelos resultados do planejamento Doehlert (*Condições: fortificação de $100 \mu\text{g L}^{-1}$ dos analitos, pH mantido em 6,00, 3 ciclos de extração, $800 \mu\text{L}$ de amostra, 30 s e 1 ciclo de desorção, $100 \mu\text{L}$ de solvente ACN:MeOH 50:50 (v/v)).

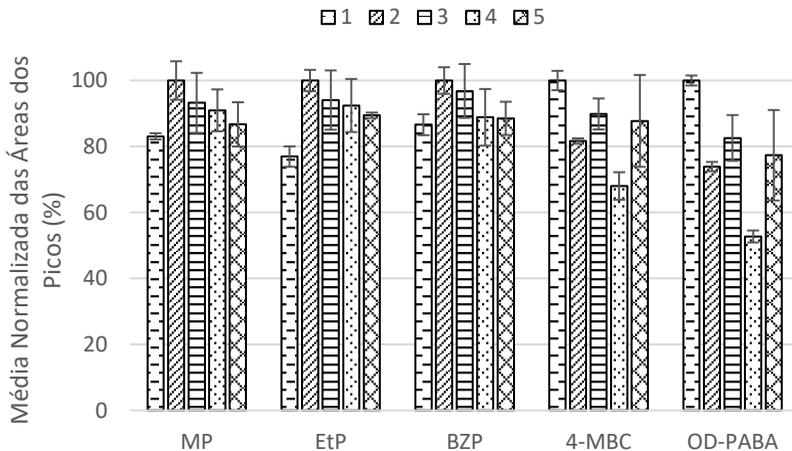


A superfície foi construída a partir de uma função quadrática que forneceu um coeficiente de determinação (R^2) igual a 0,9862. Dois máximos são visíveis na superfície, entretanto a melhor resposta foi obtida em 30 segundos e 30% de sal adicionado. A quantidade de sal elevada causa o efeito *salting out* onde a solubilidade dos analitos diminui devido à presença de íons Na^+ e Cl^- que são facilmente solvatados por moléculas de água no meio da solução. Esferas de hidratação se formam ao redor dos íons salinos, deixando os analitos livres para serem mais facilmente extraídos pela fase extratora. Sendo assim, um tempo de 30 segundos e 30% de sal foi fixado como condição compromisso.

5.2.8 Otimização do Número de Ciclos de Extração

A última otimização do procedimento foi avaliar o número de ciclos necessários para a etapa de extração. Foram avaliados de 1 a 5 ciclos, em triplicata, onde no gráfico de barras da Figura 17 está representado os resultados obtidos para cada analito, sendo utilizada a mesma alíquota para se realizar este procedimento.

Figura 17: Gráfico de barras obtido para a otimização do número de ciclos de extração (*Condições: fortificação de $100 \mu\text{g L}^{-1}$ dos analitos, 3 ciclos de extração, pH mantido em 6,00, $800 \mu\text{L}$ de amostra, 30 s de extração, 30% de sal, 30 s e 1 ciclo de dessorção, $100 \mu\text{L}$ de solvente ACN:MeOH 50:50 (v/v)).

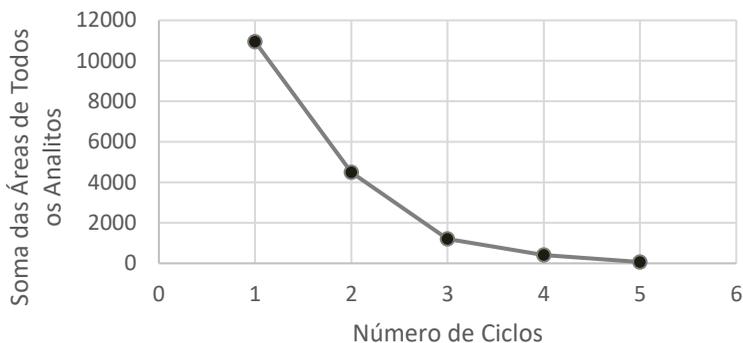


A partir das respostas obtidas é possível perceber diferentes respostas apresentadas entre 1 a 5 ciclos. Para o MP, EtP e BZP, 2 ciclos apresentou a melhor resposta, sendo 1 e 3 ciclos apresentando eficiência de extração muito próximas ao resultado máximo. Para o 4-MBC e OD-PABA, um total de 1 ciclo apresentou-se como melhor eficiência. Entretanto, 3 ciclos apresenta uma resposta próxima a esse resultado. Desta forma, 3 ciclos foram utilizados como condição compromisso entre os 5 analitos sem afetar de maneira significativa a extração com a poeira de DPX.

5.2.9 Otimização da Etapa de Limpeza da Cortiça na DPX

Foi avaliada a necessidade de se utilizar uma etapa de limpeza entre cada novo experimento para se evitar possíveis erros provocados por efeito de memória. Na Figura 18 está apresentado um gráfico indicando o número de ciclos de $100 \mu\text{L}$ de MeOH e ACN 50:50 (v/v) necessários para observar a ausência de sinal analítico.

Figura 18: Gráfico obtido para o número de ciclos de limpeza (*Condições: fortificação de $100 \mu\text{g L}^{-1}$ dos analitos, 3 ciclos de extração, pH mantido em 6,00, $800 \mu\text{L}$ de amostra, 30s e 3 ciclos de extração, 30% de sal, 30 s e 1 ciclo de dessorção, $100 \mu\text{L}$ de solvente ACN:MeOH 50:50 (v/v)).



Neste estudo, cada ciclo realizado é feito a partir de uma alíquota nova, e segundo resultados obtidos e apresentados na Figura 18, 5 ciclos de limpeza com a mistura de solventes mostrou-se eficaz para retirada quase total de todos os analitos da cortiça na DPX, portanto foi fixado essa condição. Além disto, foi utilizado 1 ciclo em água ultrapura de $800 \mu\text{L}$, pois com a condição de 30% de sal otimizada na seção 5.2.6 e visando reduzir eventuais problemas com cristalização do sal nos filtros da DPX, foi realizada essa etapa para aumentar a vida útil das ponteiros utilizadas.

5.2.10 Condições Otimizadas do Método

Para a etapa de extração, as condições otimizadas foram $800 \mu\text{L}$ de amostra, 5 mg para a massa de cortiça, 3 ciclos de 30 segundos cada em uma mesma alíquota, com adição de 30% de sal e pH mantido em 6,00. Tal pH é devido ao OD-PABA apresentar um grupo amino em sua estrutura e na Tabela 4 o seu pKa é mostrado como sendo 2,39, desta forma, em pH's acima deste valor, o grupo amino está desprotonado, portanto está em sua forma neutra. Para os demais analitos, todos os valores de pKa exibidos são acima de 7,87, logo o pH 6,00 foi escolhido pois todos os analitos se encontram na forma neutra para serem extraídos e pelo pH da água ultrapura e da amostra serem próximos a este valor.

Para a etapa de dessorção, o solvente escolhido foi uma mistura de ACN e MeOH (50:50), com volume de $100 \mu\text{L}$ e apenas 1 ciclo de 30

segundos. Para a etapa de limpeza, 5 ciclos com a mistura de solventes ACN e MeOH (50:50) em alíquotas diferentes de 100 μL cada, foi otimizada, sendo 30 segundos para cada ciclo e mais 1 ciclo em água ultrapura de 30 segundos e volume de 800 μL .

5.3 FIGURAS ANALÍTICAS DE MÉRITO

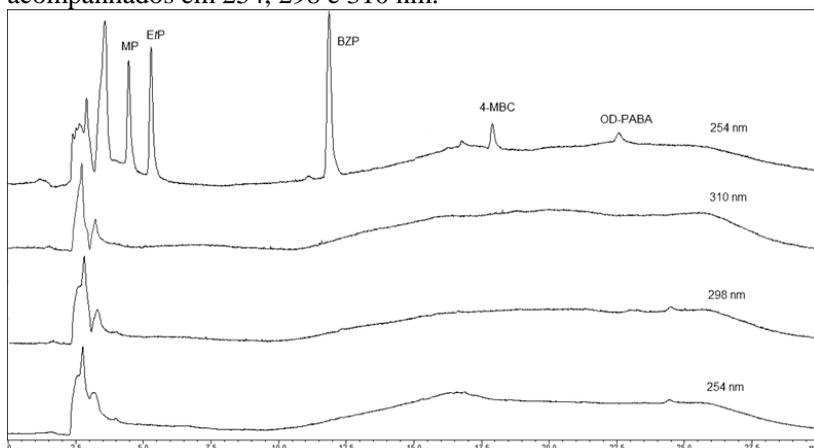
Com todas as otimizações do método realizadas, as figuras de mérito foram obtidas e estão apresentadas na Tabela 10. Os coeficientes de correlação apresentaram valores aceitáveis maiores ou igual a 0,9962 indicando uma boa correlação linear da curva de calibração para cada analito. Nenhum do analitos apresenta limites máximos permitidos pela Resolução do Conama de 2012 ou pela Resolução Normativa Europeia de 2016, dessa forma, os limites de detecção apresentaram valores entre 0,6 $\mu\text{g L}^{-1}$ para o MP a 1,4 $\mu\text{g L}^{-1}$ para o 4-MBC e os limites de quantificação variaram de 2,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ para o MP e BZP a 4,3 $\mu\text{g L}^{-1}$ para o 4-MBC, sendo limites baixos e satisfatórios.

Tabela 10: Limites de detecção, quantificação, faixa linear de trabalho, coeficiente de correlação linear e as equações lineares para os 5 analitos.

Analito	LOD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LOQ ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Faixa Linear de Trabalho ($\mu\text{g L}^{-1}$)	R	Equação Linear
MP	0,6	2,0	5-200	0,9980	$y = 194.81x - 52.027$
EtP	0,7	2,2	4-200	0,9962	$y = 232.025x - 453.33$
BZP	1,0	2,0	2-200	0,9964	$y = 217.049x - 132.83$
4-MBC	1,4	4,3	5-150	0,9969	$y = 204.55x + 641.30$
OD-PABA	1,2	3,7	5-150	0,9966	$y = 166.034x + 567.24$

Ensaio de recuperação relativa e as precisões intradia e interdia foram realizadas na amostra de água da Lagoa da Conceição. Inicialmente foi realizado um branco para se verificar a presença de possíveis interferências e efeito de matriz que esta poderia causar. Além disto, foi verificada a salinidade da amostra, pois o método utiliza uma quantidade grande de sal. Medidas foram realizadas em triplicata, indicando uma porcentagem de sal média de 24g/100mL ou 24% da amostra do lago. Sendo assim, uma certa quantidade de NaCl foi adicionado à amostra a fim de se chegar na porcentagem de 30% de sal (m/v). Na Figura 19 está apresentado 4 cromatogramas sobrepostos, sendo o primeiro a fortificação dos analitos em 100 µg L⁻¹ e os outros 3, brancos da amostra acompanhados nos 3 comprimentos de ondas utilizados neste trabalho.

Figura 19: Cromatogramas da fortificação dos analitos e dos brancos acompanhados em 254, 298 e 310 nm.



A partir dos cromatogramas é possível determinar que nenhum dos analitos foi detectado pelo método desenvolvido, podendo estar abaixo do limite de detecção do método. Sendo assim a recuperação relativa foi realizada utilizando-se 3 níveis de concentração, como sendo o primeiro próximo ao LOQ, um ponto intermediário e terceiro ponto como sendo o ponto máximo da faixa linear de trabalho para cada analito. As precisões intradia e interdia foram realizadas nas mesmas concentrações e os resultados são exibidos na Tabela 11.

Tabela 11: Recuperações relativas e precisões intradia e interdia na amostra de água da Lagoa da Conceição.

Composto	Fortificação ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Recuperação Relativa (%)	Precisão	Precisão
			Intradia (%) (n = 3)	Interdia (%) (n=9)
MP	5	101	19	13
	97,5	105	18	14
	200	80	3	13
EtP	4	76	14	15
	98	84	4	17
	200	86	5	9
BZP	2	79	13	16
	99	71	8	16
	200	78	10	11
4-MBC	5	91	17	17
	72,5	79	20	20
	150	95	19	17
OD-PABA	5	103	14	11
	72,5	87	6	14
	150	132	23	23

A partir dos dados apresentados na Tabela 11, as recuperações variam de 71% para o BZP a 132% para o OD-PABA, sendo este último, um valor relativamente elevado, e como possível justificativa é a ocorrência de um efeito de matriz em concentrações mais elevadas para o OD-PABA. Segundo a AOAC de 2016, existem faixas aceitáveis para a precisão e a recuperação dos analitos conforme sua concentração, sendo estes valores apresentados na Tabela 12. Conforme a faixa obtida de 71% a 105% para a recuperação, com exceção do último ponto do OD-PABA são valores aceitáveis estando de acordo com as normas da AOAC. Ensaio de precisão intradia apresentaram valores entre 3% para o MP em $200 \mu\text{g L}^{-1}$ e 23% para o OD-PABA em $150 \mu\text{g L}^{-1}$, já a precisão interdia variou de 9% para o EtP em $200 \mu\text{g L}^{-1}$ até 23% para o OD-PABA em $150 \mu\text{g L}^{-1}$. Todas as precisões apresentaram valores consideráveis estando com valores menores que 23% também estando de acordo com os parâmetros da AOAC (2016).

Tabela 12: Recuperações e precisões (RSD %) em função da concentração do analito de acordo com as normas estabelecidas pela AOAC (2016).

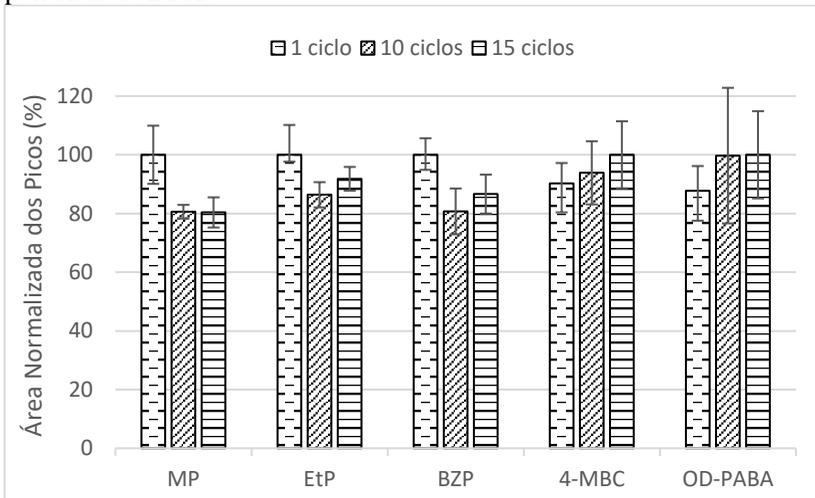
Analito, %	Fração em Massa (C)	Unidade	RSD, %	Recuperação Média, %
100	10	100%	1,3	98-102
10	10 ⁻¹	10%	1,9	98-102
1	10 ⁻²	1%	2,7	97-103
0,01	10 ⁻³	0,1%	3,7	95-105
0,001	10 ⁻⁴	100 ppm (mg kg ⁻¹)	5,3	90-107
0,0001	10 ⁻⁵	10 ppm (mg kg ⁻¹)	7,3	80-110
0,00001	10 ⁻⁶	1 ppm (mg kg ⁻¹)	11	80-110
0,000001	10 ⁻⁷	100 ppb (µg kg ⁻¹)	15	80-110
0,0000001	10 ⁻⁸	10 ppb (µg kg ⁻¹)	21	60-115
0,00000001	10 ⁻⁹	1 ppb (µg kg ⁻¹)	30	40-120

5.4 ESTABILIDADE DAS PONTEIRAS DE DPX COM CORTIÇA

Para verificar a estabilidade da cortiça na ponteira de DPX, 15 ciclos completos de experimentos foram aplicados, incluindo extração, dessorção e limpeza. Este estudo é importante devido à grande quantidade de NaCl utilizado na amostra, que pode diminuir a vida útil dessas ponteiras. Além disso, sucessivos ciclos podem acabar levando a

saturação da cortiça diminuindo sua eficiência de extração. Na Figura 20 está apresentado um gráfico de barras comparativo entre 1, 10 e 15 ciclos de experimentos.

Figura 20: Gráfico de barras para o estudo da estabilidade da cortiça nas ponteiras de DPX.



As concentrações utilizadas neste teste foi o último ponto da faixa linear de trabalho determinado para cada analito. É possível perceber que, até 15 ciclos, a eficiência de extração manteve-se quase a mesma, sendo verificado apenas para o metil parabeno uma diminuição de até 80% da eficiência. Entretanto, a estabilidade mantém-se satisfatória até 15 ciclos, com RSDs abaixo de 20%, indicando que a etapa de limpeza se faz necessária para se garantir uma maior vida útil das ponteiras, sendo então reutilizadas sem perder a eficiência de extração, de forma significativa.

5.5 TESTE DE ROBUSTEZ

Um dos testes para se avaliar a robustez de uma metodologia desenvolvida é o teste de robustez de Youden. Foram selecionados 7 parâmetros otimizados do método, sendo quantidade de sal, ciclos de extração e dessorção, solvente de dessorção, volume de amostra e de dessorção e massa de cortiça adicionada na ponteira de DPX. Os valores e parâmetros selecionados foram tratados de acordo com as Tabelas 8 e 9 da Seção 4.6, obtendo os efeitos e as combinações fatoriais entre eles. A

partir dos dados, dois gráficos foram construídos, o gráfico de Daniel e de Lenth's e são apresentados nas Figuras 21 e 22, respectivamente.

Figura 21: Gráfico de Daniel.

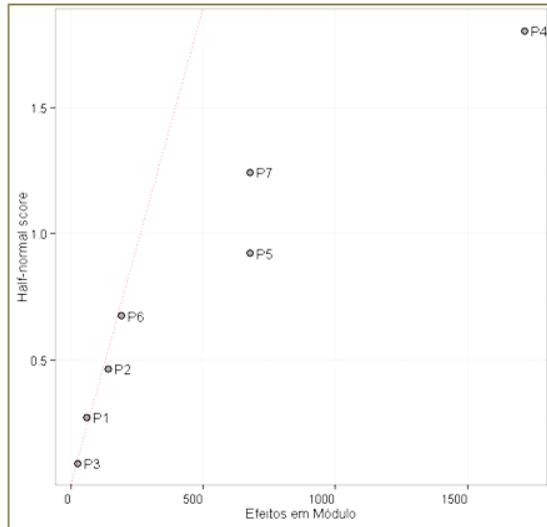
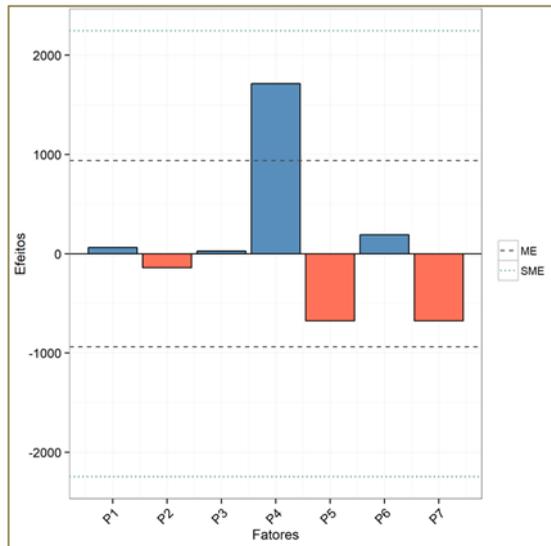


Figura 22: Gráfico de Lenth's.



Ambos os gráficos obtidos indicam quais efeitos apresentam respostas significativas na robustez do método quando variados de forma ínfima. No gráfico de Daniel, quanto mais próxima da linha imaginária traçada, indica que os parâmetros não apresentam uma variação significativa no resultado. Por outro lado, quanto mais afastado está o efeito desta linha, maior a relevância que o parâmetro apresenta sobre o método. Já no gráfico de Lenth's, os resultados dos 7 fatores são determinados com um intervalo de confiança de 97.5% e são delimitadas duas linhas tracejadas, a primeira delas próxima a 1000 indica a margem de erro (ME), sendo os efeitos que estão abaixo desta linha aqueles que não interferem nos resultados variando-se os parâmetros de forma mínima, entretanto é utilizada quando se avalia apenas um parâmetro por vez. Já para a segunda linha tracejada, é a margem de erro simultânea (SME), onde é usada quando se avalia mais de um parâmetro simultaneamente, sendo respostas abaixo desta margem indicando que o efeito dos parâmetros não apresenta significância sob a robustez do método. Para os efeitos que apresentarem valores acima da SME, são efeitos que apresentam magnitude significativa sobre o método indicando que a robustez é modificada variando-se os efeitos de forma irrelevante (Leonardi et al, 2015).

Com base nos gráficos obtidos, pode-se perceber que apenas um efeito mostra uma alteração na robustez do método, sendo o efeito representado pelo P4 que corresponde ao parâmetro D na Tabela 9, e indica a variação do solvente de dessorção. Entretanto, pelo gráfico de Lenth's é possível identificar que este efeito está entre a ME e a SME, indicando que não apresenta uma significância sobre a robustez do método. Avaliando-se as variações realizadas, pode-se estabelecer que a variação feita neste parâmetro pode ser considerada razoável, sendo 10% do valor da condição nominal. Apesar dessa variação razoável, o método apresentou-se como robusto.

5.6 COMPARAÇÃO COM OUTROS MÉTODOS REPORTADOS NA LITERATURA

Uma comparação entre métodos já publicados na literatura com o desenvolvido neste projeto foi realizada, sendo apresentado na Tabela 13. É possível perceber que o método desenvolvido neste trabalho faz uso de baixos volumes de amostra e de solvente, gerando, portanto, uma baixa quantidade de resíduos. O tempo total gasto para realização do método é relativamente pequeno, indicando uma boa frequência analítica. As faixas lineares de trabalho são amplas, sendo o primeiro ponto obtido, para a

maioria dos analitos, menor do que os já apresentados na literatura. Além disso, o método utiliza como fase extratora um biossorvente natural e renovável, obtidos de materiais recicláveis, sendo, portanto, de maior custo benefício e estando de acordo com alguns dos preceitos da química analítica verde.

Tabela 13: Comparação entre o método proposto e outros publicados na literatura. Todos os estudos empregam LC com UV-Vis como detecção.

Técnica de Preparo de Amostra	Fase Extratora	Amostra	Faixa Linear de Trabalho ($\mu\text{g L}^{-1}$)					Tempo Total (min)	Volume Total de Amostra e Solvente	Ref.
			MP	EtP	BZP	4-MBC	OD-PABA			
Este Estudo	Cortiça	Água de Lago	5 - 200	4 - 200	2 - 200	5 - 150	5 - 150	5	800 μL + 100 μL	-
BAμE	Cortiça	Água de Lago	20 - 500	8 - 500	-	-	-	120	15 mL + 100 μL	Dias et al., 2015.
TFME	Cortiça	Água de Rio	-	15 - 400	5 - 400	5 - 200	-	2	1.5 mL + 300 μL	Morés et al., 2018.
SPME	Nano Partículas de Ouro	Águas Ambientais	-	-	-	-	0,004 - 100	43	15 mL	Hai-Xia et al., 2015.
TFME	Terra Diatomácea	Água de rio	-	-	5 - 285	25 - 285	-	3	1.5 mL + 300 μL	Kirscher et al., 2017.
HF-DLLME	Tolueno e Isooctano	Águas de Lençóis Freáticos	-	-	-	10 - 50	-	55	21.5 mL + 100 μL	Lopes et al., 2017.

6 CONCLUSÃO

A abordagem utilizada neste trabalho empregando um biossorvente como fase extratora para a técnica de DPX apresentou êxito em quantificar os compostos metil e etil parabeno, benzofenona, 3-(4-metilbenzilideno) cânfora e 2-(etilhexil)-4-(dimetilamino) benzoato. A cortiça apresentou uma eficiência de extração satisfatória, proporcionando limites de detecção e quantificação relativamente baixos, além de ser um material renovável e biodegradável, sendo sua aquisição proveniente de rolhas descartáveis, portanto de fácil obtenção, tornando o método com bom custo benefício e apresentando vantagens de acordo com conceitos da química analítica verde. O tempo total de execução é baixo, cerca de 5 minutos, o que o torna rápido, portanto com uma boa frequência analítica, além de se utilizar baixos volumes de amostra e solvente, gerando uma pequena quantidade de resíduos. Boas recuperações relativas dos analitos foram obtidas, com exceção apenas do OD-PABA que apresentou recuperação relativa de 132% em $150 \mu\text{g L}^{-1}$, sendo a possível causa um efeito de matriz em concentrações mais altas deste composto. Para verificação da robustez, o método de Youden juntamente com análise do gráfico de Daniel e Lenth's foi aplicado, indicando que variações mínimas no método não prejudicam sua eficiência, portanto, conclui-se que é robusto.

O projeto desenvolvido foi devidamente otimizado e validado, sendo uma boa alternativa para a extração dos cinco compostos abordados, empregando o uso de uma técnica rápida e simples como a DPX em conjunto com um material renovável e biodegradável, como a cortiça, sendo, como possíveis estudos futuros, a aplicação em diferentes compostos e matrizes.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, C., NOGUEIRA, J. M. F. Determination of trace levels of parabens in real matrices by bar adsorptive microextraction using selective sorbent phases. **Journal of Chromatography A**, v. 1348, p. 17-26, 2014.

ALMEIDA, C., STEPKOWSKA, A., ALEGRE, A., NOGUEIRA, J. M. F. Determination of trace levels of benzophenone-type ultra-violet filters in real matrices by bar adsorptive micro-extraction using selective sorbent phases. **Journal of Chromatography A**, v. 1311, p. 1-10, 2013.

AOAC/ Association of Official Analytical Chemists. **Official Methods of Analysis**: Appendix F: Guidelines for Standard Method Performance Requirements. AOAC International: Maryland, 2016.

BARBOSA, A. Q., DA SILVA, L. F. M., ABENOJAR, J., FIGUEIREDO, M., ÖCHSNER, A. Toughness of brittle epoxy resin reinforced with micro cork particles: Effect of size, amount and surface treatment. **Composites Part B**, v. 114, p. 299-310, 2017.

BERTON, P., LANA, N. B., RÍOS, J. M., GARCÍA-REYES, J. F., ALTAMIRANO, J. C. State of the art of environmentally friendly sample preparation approaches for determination of PBDEs and metabolites in environmental and biological samples: A critical review. **Analytica Chimica Acta**, v. 905, p. 24-41, 2016.

BILA, D. M.; DEZOTTI, M. Desreguladores endócrinos no meio ambiente: efeitos e consequências. **Química Nova**, v.30, p.3, 2007.

BORDIN, D. C., ALVEZ, M. N., DE CAMPOS, E. G., DE MARTINIS, B. S. Disposable pipette tips extraction: Fundamentals, applications and state of the art. **Journal of Separation Science**, v. 39, p. 1168-1172, 2016.

BOYACI, E., RODRÍGUEZ-LAFUENTE, Á., GORYSNKI, K., MIRNAGHI, F., SOUZA-SILVA, É. A., HEIN, D., PAWLISZYN, J. Sample preparation with solid phase microextraction and exhaustive extraction approaches: Comparison for challenging cases. **Analytica Chimica Acta**, v. 873, p. 14-30, 2015.

BREWER, W. E. Disposable pipette extraction. Patent of U.S. 2003.

CARASEK, E., MERIB, J., Membrane-based microextraction techniques in analytical chemistry: A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 880, p.8–25, 2015.

CHAVES, A. R., MOURA, B.H.F., CARIS, J. A., RABELO, D., QUEIROZ, M. E. C. The development of a new disposable pipette extraction phase based on polyaniline composites for the determination of levels of antidepressants in plasma samples. **Journal of Chromatography A**, v. 1399, pg. 1-7, 2015.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE (CONAMA). Secretaria do Meio Ambiente da República. Resoluções vigentes publicadas entre setembro de 1984 e janeiro de 2012.

CORAZZA, G.; MERIB, J.; MAGOSSO, H.A.; BITTENCOURT, O.R.; CARASEK, E. A hybrid material as a sorbent phase for the disposable pipette extraction technique enhances efficiency in the determination of phenolic endocrine-disrupting compounds. **Journal of Chromatography A**, v. 1513, p. 42-50, 2017.

DE LA CRUZ, N., GIMÉNEZ, J., ESPLUGAS, S., GRANDJEAN, D., DE ALENCASTRO, L. F., PULGARÍN, C. Degradation of 32 emergent contaminants by UV and neutral photo-fenton in domestic wastewater effluent previously treated by activated sludge. **ScienceDirect**, v. 46, p. 1947-1957, 2012.

DE OLIVEIRA, H., YOON, B., MICHAUD, V., NAM, J. D., SUHR, J. All natural cork composites with suberin-based polyester and lignocellulosic residue. **Industrial Crops & Products**, v. 109, p. 843-849, 2017.

DIAS, A. N., SIMÃO, V., MERIB, J., CARASEK, E. Cork as a new (green) coating for solid-phase microextraction: Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in water samples by gas chromatography–mass spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 772, p. 33-39, 2013.

DIAS, A. N., SIMÃO, V., MERIB, J., CARASEK, E. Use of green coating (cork) in solid-phase microextraction for the determination of

organochlorine pesticides in water by gas chromatography-electron capture detection. **Talanta**, v. 134, p. 409-414, 2015.

DIAS, A. N., SILVA, A. C., SIMÃO, V., MERIB, J., CARASEK, E. A novel approach to bar adsorptive microextraction: Cork as extractor phase for determination of benzophenone, triclocarban and parabens in aqueous samples. **Analytica Chimica Acta**, v. 888, p. 59-66, 2015.

DIMPE, K. M., NOMNGONGO, P. N. Current sample preparation methodologies for analysis of emerging pollutants in different environmental matrices. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 82, p. 199-207, 2016.

DIRETIVA 2013/39/UE DO PARLAMENTO EUROPEU E DO CONSELHO, de 12 de agosto de 2013, que altera as Diretivas 2000/60/CE e 2008/105/CE no que diz respeito às substâncias prioritárias no domínio da política da água.

DOMINGUES, V., ALVES, A., CABRAL, M., DELERUE-MATOS, C. Sorption behavior of bifenthrin on cork. **Journal of Chromatography A**, v. 1069, p. 127-132, 2005.

DOMINGUES, V. F., PRIOLO, G., ALVES, A. C., CABRAL, M. F., DELERUE-MATOS, C. Adsorption behavior of alpha-cypermethrin on cork and activated carbon. **Journal of Environmental Science and Health**, v. 42, p. 649-654, 2007.

DPX Technologies. Site: <http://dpxtechnologies.com/> Acesso em: 30/05/2018.

EKPEGHERE, K. I., KIM, U. J., O, S. H., KIM, H. Y., OH, J. E. Distribution and seasonal occurrence of UV filters in rivers and wastewater treatment plants in Korea. **Science of the Total Environment**, v. 542, p. 121-128, 2016.

FARAJZADEH, M. A., DJOZAN, D., KHORRAM, P. Development of a new dispersive liquid-liquid microextraction method in a narrow-bore tube for preconcentration of triazole pesticides from aqueous samples. **Analytica Chimica Acta**, v. 713, p. 70-78, 2011.

FENT, K., KUNZ, P. Y., ZENKER, A., RAPP, M. A tentative environmental risk assessment of the UV-filters 3-(4-methylbenzylidene)camphor, 2-ethyl-hexyl-4-trimethoxycinnamate, benzophenone-3, benzophenone-4 and 3-benzylidene camphor. **Marine Environmental Research**, v. 69, p. S4-S6, 2010.

FERNANDES, E. M., CORRELO, V. M., MANO, J. F., REIS, R. L. Cork-polymer biocomposites: Mechanical, structural and thermal properties. **Materials and Design**, v. 82, p. 282-289, 2015.

FILIPPOU, O., BITAS, D., SAMANIDOU, V. Green approaches in sample preparation of bioanalytical samples prior to chromatographic analysis. **Journal of Chromatography B**, v. 1043, p. 44-62, 2017.

GALLARDO-CHACÓN, J. J., KARBOWIAK, T. Sorption of 4-ethylphenol and 4-ethylguaicol by suberin from cork. **Food Chemistry**, v. 181, p. 222-226, 2015.

GAO, L., CHEN, S., ZHANG, D. Advances in modifying lignin structures for largely enhancing high-lignin biomass saccharification. **Process Biochemistry**, v. 57, p. 175-180, 2017.

GHISELLI, G. Avaliação da qualidade das águas destinadas ao abastecimento público na região de Campinas: ocorrência e determinação dos interferentes endócrinos (IE) e produtos farmacêuticos e de higiene pessoal (PFHP). Tese de doutorado, UNICAMP, Campinas, 2006.

GIL, L. M. C. C. Química da Cortiça: ponto da situação. Química, Boletim da Sociedade Portuguesa de Química, 1993.

GUAN, H., BREWER, W. E., MORGAN, S. L. New approach to multiresidue pesticide determination in foods with high fat content using disposable pipette extraction (DPX) and gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 22, p. 10531-10538, 2009.

HAI-XIA, L., YAO-XIA, Y., MING-GUANG, M., XUE-MEI, W., XIN-ZHEN D. Self-assembled gold nanoparticles coating for solid-phase microextraction of ultraviolet filters in environmental water. **Chinese Journal Analytical Chemistry**, v. 43, p. 207 – 211, 2015.

HÉRNANDEZ-BORGES, J., BORGES-MIGUEL, T. M., RODRIGUEZ-DELGADO, M. Á., CIFUENTES, A. Sample treatments prior to capillary electrophoresis-mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1153, p. 214-226, 2007.

HUANG, J., ZHANG, S., ZHANG, F., GUO, Z., JIN, L., PAN, Y., WANG, Y., GUO, T. Enhancement of lignocellulose-carbon nanotubes composites by lignocellulose grafting. **Carbohydrates Polymers**, v. 160, p. 115-122, 2017.

ICH, **Harmonised Tripartite Guideline-Validation of Analytical Procedures**: Text and Methodology - Q2 (R1), ICH, Geneva, Switzerland, 2005.

INOSTROZA, P. A., MASSEI, R., WILD, R., KRAUSS, M., BRACK, W. Chemical activity and distribution of emerging pollutants: Insights from a multi-compartment analysis of a freshwater system. **Environmental Pollution**, v. 231, p. 339-347, 2017.

JARDIM, I. C. S. F. Extração em fase sólida: Fundamentos teóricos e novas estratégias para preparação de fases sólidas. **Scientia Chromatographica**, v. 2, n° 1, p. 13-25, 2010.

JIANG R., XU, J., ZHU, F., LUAN, T., ZENG, F., SHEN, Y., OUYANG, G. Study of complex matrices effect on solid phase microextraction for biological sample analysis. **Journal of Chromatography A**, v. 1411, p. 34-40, 2015.

JÖNSSON, J. A., MATHIASSEN, L. Membrane-based techniques for sample enrichment. **Journal of Chromatography A**, v. 902, p. 205-225, 200.

KARAGEORGOU, E., SAMANIDOU, V. Youden test application in robustness assays during method validation. **Journal of Chromatography A**, v. 1353, p. 131-139, 2014.

KEN, J., CHEN, S. Thermal decomposition of lignin structural modification in termite digested softwood (II). **Fuel**, v. 104, p. 781-787, 2013.

KIRSCHER, N., DIAS, A. N., BUDZIAK, D., DA SILVEIRA, D. B., MERIB, J., CARASEK, E. Novel approach to high-throughput determination of endocrine disruptors using recycled diatomaceous earth as a green sorbent phase for thin-film solid-phase microextraction combined with 96-well plate system. **Analytica Chimica Acta**, v. 996, p. 29-37, 2017.

KOLE, P. L., VENKATESH, G., KOTECHAC, J., SHESHALAD, R. Recent advances in sample preparation techniques for effective bioanalytical methods. **Biomedical chromatography**, v. 25, pg. 199-217, 2011.

LEONARDI, F., VESCHETTI, M., TONNARINI, S., CARDELLINI, F., TREVISI, R. A step towards accreditation: A robustness test of etching process. **Applied Radiation and Isotopes**, v. 102, p. 93-97, 2015.

LI, Z., LI, Y., LIU, X., ZHOU, L., PAN, C. Multiresidue analysis of 58 pesticides in bean products by disposable pipet extraction (DPX) cleanup and gas chromatography mass-spectrometry determination. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 19, p. 4788-4798, 2012.

LIBÂNIO, M. Fundamentos de qualidade e tratamento de água. 2 ed. Campinas, SP. Editora Átomo, 2008.

LOPES, D., DIAS, A. N., SIMÃO, V., CARASEK, E. Determination of emerging contaminants in aqueous matrices with hollow fiber-supported dispersive liquid-liquid microextraction (HF-DLLME) and separation/detection by liquid chromatography – Diode array detection. **Microchemical Journal**, v. 130, p. 371-376, 2017.

MA, B., LU, G., LIU, J., YAN, Z., YANG, H. Bioconcentration and multi-biomarkers of organic UV filters (BM-DBM and OD-PABA) in crucian carp. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 141, p. 178-187, 2017.

MONTEIRO, R. A. Avaliação do potencial de adsorção de U, Th, Pb, Zn e Ni pelas fibras de coco. 2009. 79 f. Dissertação (Mestrado em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear – Materiais). Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares. São Paulo.

MORÉS, L., DIAS, A. N., CARASEK E. Development of a high-throughput method based on thin-film microextraction using a 96-well plate system with a cork coating for the extraction of emerging contaminants in river water samples. **Journal of Separation Science**, v. 41, p. 697-703, 2018.

NETO, C. P., ROCHA, J., GIL, A., CORDEIRO, N., ESCULCAS, A. P., ROCHA, S., DELGADILLO, I., PREDOSA DE JESUS, J. D., FERRER CORREIA, A. J. ^{13}C solid-state nuclear magnetic resonance and Fourier transform infrared studies of the thermal desorption of cork. **Solid State Nuclear Magnetic Resonance**, v. 4, p. 143-151, 1995.

NOVÁKOVÁ, L., VLČKOVÁ, H. A review of current trends and advances in modern bio-analytical methods: Chromatography and sample preparation. **Analytica Chimica Acta**, v. 656, p. 8-35, 2009.

OCAÑA-GONZÁLEZ, J. A., FERNÁNDEZ-TORRES, R., BELLO-LÓPEZ, M. A., RAMOS-PAYÁN, M. New developments in microextraction techniques in bioanalysis. **Analytica Chimica Acta**, v. 905, p. 8-23, 2016.

OENNING, A. L., MORÉS, L., DIAS, A. N. CARASEK, E. A new configuration bar adsorptive microextraction (BA μ E) for the quantification of biomarkers (hexanal and heptanal) in human urine by HPLC providing an alternative for early lung cancer diagnosis. **Analytica Chimica Acta**, v. 965, p. 54-62, 2017.

OLLIVELLÁ, M. À., BAZZICALUPI, C., BIANCHI, A., FIOLE, N., VILLAESCUSA, I. New insights into the interactions between cork chemical components and pesticides. The contribution of π - π interactions, hydrogen bonding and hydrophobic effect. **Chemosphere**, v. 119, p. 863-870, 2015.

OLIVELLÁ, M. À., FERNANDES, I., CANO, L., JOVÉ, P., OLIVERAS, A. Role of chemical components of cork on sorption of aqueous polycyclic aromatic hydrocarbons. **International Journal of Environmental Research**, v. 7, p. 225-234, 2013.

OLIVELLÁ M. À., JOVÉ, P., OLIVERAS, A. The use of cork waste as a biosorbent for persistent organic pollutants—Study of

adsorption/desorption of polycyclic aromatic hydrocarbons. **Journal of Environmental Science and Health, Part A**, v. 46, p. 824–832, 2011.

OTOMO, J. I. Desenvolvimento e validação de metodologia analítica para a determinação de hormônios, considerados disruptores endócrinos, nas águas destinadas ao abastecimento público na região do Rio Paraíba do Sul, SP. Dissertação de mestrado, IPEN-CNEN-SP, São Paulo, 2010.

PAPADOPOULOS, C., FRONTISTIS, Z., ANTONOPOULOU, M., VENIERI, D., KONSTANTINOU, I., MANTZAVINOS, D. Sonochemical degradation of ethyl paraben in environmental samples: Statistically important parameters determining kinetics, by-products and pathways. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 31, p. 62-70, 2016.

PATIL, S. V., NANDURI, L. S. Y. Interaction of chitin/chitosan with salivary and other epithelial cells-An overview. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 104, p. 1398-1406, 2017.

PAWLISZYN, A. C. L. Solid-phase microextraction with thermal-desorption using fused-silica optical fibers. **Analytical Chemistry**, v. 62, 2145-2148, 1990.

PETROVIĆ, M., GOZALEZ, S., BARCELÓ, D. Analysis and removal of emerging contaminants in wastewater and drinking water. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 22, p. 685-696, 2003.

PINTO, M. A. L., QUEIROZ, M. E. C. Extração em ponteiros descartáveis: fundamentos teóricos e aplicações. **Scientia Chromatographica**, v. 2, nº 7, p. 101-108, 2015.

PODOLYÁK, B., KUN, D., RENNER, K., PUKÁNSZKY, B. Hydrogen bonding interactions in poly(ethylene-co-vinyl alcohol)/lignin blends. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 107, p. 1203-1211, 2018.

PSILLAKIS, E.; KALOGERAKIS, N. Developments in liquid-phase microextraction. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 22, n. 9, p. 565-574, 2003.

QUEIROZ, M. E. C., MAGALHÃES, I. R. S., BONATO, P. S., OLIVEIRA, A. R. M. Fundamentos e avanços recentes da microextração

em fase líquida empregando membranas cilíndricas ocas (LPME). **Scientia Chromatographica**, v. 1, n. 4, p. 11-17 2009.

RAMRAKHIANI, L., HALDER, A., MAJUNDER, A., MANDAL, A. K., MAJUMDAR, S. GHOSH, S. Industrial waste derived biosorbent for toxic metal remediation: Mechanism studies and spent biosorbent management. **Chemical Engineering Journal**, v. 308, p. 1048-1064, 2017.

ROCHA, D. L., BATISTA, A. D., ROCHA, F. R. P., DONATI, G. L., NÓBREGA, J. A. Greening sample preparation in inorganic analysis. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 45, p. 79-92, 2013.

SØEBORG, T., GANDERUP, N. C., KRISTENSEN, J. H., BJERREGAARD, P., PEDERSEN, K. L., BOLLEN, P., HANSEN, S. H., SØRENSEN, B. H. Distribution of the UV filter 3-benzylidene camphor in rat following topical application. **Journal of Chromatography B**, v. 834, p. 117-121, 2006.

SATHAWONG, S., SRIDACH, W., TECHATO, K. A. Lignin: Isolation and preparing the lignin based hydrogel. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, Accepted Manuscript, 2018.

SOPHIA, C. A., LIMA, E. C. Removal of emerging contaminants from the environmental by adsorption. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 150, p. 1-17, 2018.

SOUTO, F., CALADO, V., JUNIOR, N. P. Fibras de carbono a partir da lignina: uma revisão da literatura. **Revista Matéria**, v. 20, p. 100-114, 2015.

TANKIEWICZ, M.; FENIK, J.; BIZIUK, M. Solventless and solvent-minimized sample preparation techniques for determining currently used pesticides in water samples: A review. **Talanta**. v. 86, p. 8–22, 2011.

TOBISZEWSKI, M., MECHLINSKA, A., ZYGMUNT, B., NAMIESNIK, J. Green analytical chemistry in sample preparation for determination of trace organic pollutants. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 28, p. 943-951, 2009.

TRAN, V. S., NGO, H. H., GUO, W., ZHANG, J., LIANG, S., TON-THAT, C., ZHANG, X. Typical low cost biosorbents for adsorptive removal of specific organic pollutants from water. **Bioresource Technology**, v. 182, p. 353-363, 2015.

YOSHIMURA, K., WAKI, H., OHASHI, S. Ion-exchanger colorimetry-I. Micro determination of chromium, iron, copper and cobalt in water. **Talanta**, v. 23, p. 449-454, 1976.