



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS FÍSICAS E MATEMÁTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

Camila Maiara dos Santos Vieira

**NOVAS CONFIGURAÇÕES PARA EXTRAÇÃO SORTIVA EM DISCO
ROTATIVO (RDSE) UTILIZANDO CORTIÇA COMO FASE EXTRATORA**

Florianópolis, 2019

Camila Maiara dos Santos Vieira

**NOVAS CONFIGURAÇÕES PARA EXTRAÇÃO SORTIVA EM DISCO
ROTATIVO (RDSE) UTILIZANDO CORTIÇA COMO FASE EXTRATORA**

Tese submetido(a) ao Programa de Pós
graduação em Química da Universidade
Federal de Santa Catarina para a obtenção
do Grau de Doutor (a) em Química.
Orientador: Prof. Dr. Eduardo Carasek

Florianópolis
2019

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

Vieira, Camila Maiara dos Santos
NOVAS CONFIGURAÇÕES PARA EXTRAÇÃO SORTIVA EM DISCO
ROTATIVO (RDSE) UTILIZANDO CORTIÇA COMO FASE EXTRATORA /
Camila Maiara dos Santos Vieira ; orientador, Eduardo
Carasek , 2019.
134 p.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa
Catarina, , Programa de Pós-Graduação em , Florianópolis,
2019.

Inclui referências.

1. . 2. Extração Sortiva. 3. Preparo de amostra. 4.
Cromatografia. 5. Cortiça . I. , Eduardo Carasek. II.
Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós
Graduação em . III. Título.

Camila Maiara dos Santos Vieira

O presente trabalho em nível de doutorado foi avaliado e aprovado por banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof.^a Maria Eugenia Queiroz Nassur, Dr.^a
Universidade de São Paulo – Campus Ribeirão Preto

Prof.^a Dilma Budziak, Dr.^a
Universidade Federal de Santa Catarina – Campus Curitibanos

Prof. Eduardo Sidinei Chaves Dr.
Universidade Federal de Santa Catarina

Lizandra Bretanha, Dr.^a
Universidade Federal de Santa Catarina

Certificamos que esta é a versão original e final do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de doutora em química analítica.

Prof. Vanderlei Gageiro Machado, Dr.
Coordenador do Curso

Prof.^a Eduardo Carasek, Dr.
Orientador

Florianópolis, 28 de Agosto de 2019.

Dedico esse trabalho a Vitor Debatin Vieira,
meu companheiro na ciência e na vida.

RESUMO

Neste trabalho foi apresentado o uso do biossorvente cortiça como fase extratora no desenvolvimento, validação e aplicação de 3 novas metodologias analíticas baseadas em extração sortiva em disco rotativo (RDSE), sendo elas (i) a configuração clássica, (ii) uma modificação à RDSE original, e (iii) uma nova técnica de preparo de amostra que apresenta uma potencial evolução da RDSE. Estratégias de planejamento experimental multivariadas e univariadas foram utilizadas em todas as otimizações. A configuração original do disco rotativo comporta até 5 mg de material sorvente em sua cavidade e costuma requerer volumes superiores a 3 mL de solvente orgânico para a dessorção dos analitos. No primeiro estudo, a cortiça em pó foi utilizada como sorvente e comparada com C18 e argila modificada com líquido iônico (MMT-IL) na determinação de parabenos por HPLC-ESI-MS/MS utilizando a RDSE clássica para análise de águas superficiais. O biossorvente proposto, além de ter apresentado melhor eficiência analítica em comparação às outras fases extradoras, possibilitou o uso 3 mL de uma solução de hidróxido de amônio pH 10 para a dessorção dos analitos; adicionando um segundo elemento verde à metodologia já ambientalmente amigável. O segundo trabalho propôs uma modificação à configuração anterior da RDSE e possibilitou um incremento de 500% de massa de cortiça na cavidade do disco. Neste, a fase extratora é utilizada em lâminas em substituição ao pó, permitindo a remoção da tampa do aparato original e promovendo uma redução superior a 65% no volume do solvente de dessorção. A nova configuração foi utilizada no desenvolvimento de uma metodologia de preparo de amostra de alta frequência analítica (5 minutos por amostra) para a quantificação multiresíduo de 20 micropoluentes orgânicos por GC-MS em amostras de águas superficiais, apresentando LOQs entre 0,29 e 4,19 $\mu\text{g L}^{-1}$. No terceiro e último capítulo deste trabalho, é apresentada a utilização da cortiça como fase extratora em uma nova técnica de preparo de amostra artesanal baseada em RDSE: a Extração em Sorvente Rotativo (RSE). Esta configuração consiste na fabricação de discos do material sorvente contendo uma barra de agitação magnética em seu interior, permitindo a rotação controlada do disco sem a necessidade da estrutura de teflon. A RSE possibilitou o uso de discos de cortiça contendo 30 vezes mais cortiça e 65% menos solvente do que a técnica original. Em comparação ao segundo trabalho, apesar de volume de solvente de dessorção ter permanecido inalterado, o aumento da quantidade de cortiça em até 430% contribuiu para o aprimoramento da detectabilidade do método. Por fim, a RSE utilizando cortiça como biossorvente foi aplicada para a determinação por GC-MS de 5 pesticidas em amostras de água de lavagem de produtos hortifrúti. Os excelentes resultados obtidos indicam que a RSE pode ser utilizada como uma promissora ferramenta analítica para o desenvolvimento de futuras metodologias.

Palavras-chave: Extração sortiva em disco rotativo, extração em sorvente rotativo, cortiça, cromatografia gasosa, cromatografia líquida, amostras aquosas.

ABSTRACT

In this work the use of biosorbent cork as extraction phase in the development, validation and application of 3 new analytical methodologies based on sorting in rotary disc (RDSE) was presented, being (i) the classical configuration, (ii) a modification to RDSE original, and (iii) a new sample preparation technique that presents a potential evolution of RDSE. Multivariate and univariate experimental planning strategies were used in all optimizations. The original configuration of the rotating disk holds up to 5 mg of sorbent material in its cavity and usually requires volumes greater than 3 ml of organic solvent for the desorption of the analytes. In the first study, cork powder was used as sorbent and compared with C18 and modified clay with ionic liquid (MMT-IL) in the determination of parabens by HPLC-ESI-MS / MS using classical RDSE for surface water analysis. In addition to having better analytical efficiency in comparison to the other extractive phases, the proposed biosorbent allowed the use of 3 mL of an ammonium hydroxide solution pH 10 for the desorption of the analytes; adding a second green element to the already environmentally friendly methodology. The second work proposed a modification to the previous configuration of the RDSE and allowed a 500% increase of mass of cork in the disc cavity. In this, the extractive phase is used in slides in substitution to the powder, allowing the removal of the lid of the original apparatus and promoting a reduction of more than 65% in the volume of the solvent of desorption. The new configuration was used in the development of a high frequency analytical sample preparation methodology (5 minutes per sample) for the multiresidues quantification of 20 organic micro-pollutants by GC-MS in surface water samples, presenting LOQs between 0.29 and 4 , 19 $\mu\text{g L}^{-1}$. In the third and final chapter of this work, the use of cork as extraction phase is presented in a new technique for the preparation of an artesian sample based on RDSE: Rotative Sorbent Extraction (RSE). This configuration consists of manufacturing disks of the sorbent material containing a magnetic stir bar inside it, allowing controlled rotation of the disc without the need for the teflon structure. RSE allowed the use of cork disks containing 30 times more cork and 65% less solvent than the original technique. In comparison to the second work, although the desorption solvent volume remained unchanged, the increase in the amount of cork up to 430% contributed to the improvement of the detectability of the method. Finally, RSE using cork as biosorbent was applied for GC-MS determination of 5 pesticides in samples of washing water of vegetables. The excellent results indicate that RSE can be used as a promising analytical tool for the development of future methodologies.

Keywords: Rotating disk sorptive extraction, rotating sorbent extraction, cork, gas chromatography, liquid chromatography, aqueous samples.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Dispositivo comercial da fibra de SPME: (a) Posição com a fibra retraída na agulha, (b) posição com a fibra exposta. No detalhe são mostradas as dimensões típicas da fibra comercial com recobrimento de PDMS com 100 μm de espessura.....	24
Figura 2 - Representação esquemática da (a) barra de SBSE comercialmente conhecida como Twister® (b) modos relativos à extração sendo 1- Frasco de amostragem; 2- HS; 3- Vortex; 4- Amostra; 5- Barra de agitação magnética em Teflon; 6- Barra de agitação de SBSE.....	27
Figura 3 - Primeira configuração da RDSE:	29
Figura 4 - Efeito de velocidade de rotação na quantidade extraída de nonilfenol. As extrações foram feitas utilizando PDMS e a partir de uma solução de amostra de água de 250 mL adicionada com analito a 10 g.L^{-1} e tempo de extração: 20 min.	31
Figura 5 - Efeito do tempo de extração na quantidade extraída de nonilfenol. As extrações foram feitas utilizando PDMS e a partir de uma solução de amostra de água de 250 mL adicionada com analito a 10 g.L^{-1} . Velocidade de rotação: 1250 rpm.	32
Figura 6 - Segunda configuração RDSE	33
Figura 7 - Casca do sobreiro sendo retirada e produção em larga escala de cortiça.	39
Figura 8 - Demonstração da forma com que rolhas de cortiça são cortadas da casca.....	39
Figura 9 - Micrografia SEM de cortiça natural (após fervura) – a) uma seção radial; b) seção tangencial.	41
Figura 10 - Evolução do número de publicações em jornais indexados contendo a palavra-chave "cortiça" entre 2000 e 2018.....	43
Figura 11 - Estrutura Química dos VOCs estudados no trabalho.....	46
Figura 12 - Estrutura Química dos HPAs estudados no trabalho.	48
Figura 13 - Estrutura Química dos Pesticidas estudados no trabalho.	50
Figura 14 - Gráfico de distribuição das espécies para Pendimentalina.....	50
Figura 15 - Gráfico de distribuição das espécies para Carbofurano.	51

Figura 16 - Gráfico de distribuição das espécies para Tebuconazol.....	51
Figura 17 - Gráfico de distribuição das espécies para Atrazina.....	52
Figura 18 - Estrutura Química dos Parabenos, MBC e EHPABA estudados no trabalho	54
Figura 19 - Gráfico de distribuição das espécies para Parabenos.	54
Figura 20 - Gráfico de distribuição das espécies para EHPABA.	55
Figura 21 – Esquema do procedimento RDSE. 1) Montagem do disco: (a) tampa, (b) filtro de papel, (c) sorvente e (d) barra magnética; 2) condicionamento; 3) extração dos analitos da amostra aquosa; 4) dessorção; 5) Extrato em um frasco para posterior injeção; e 6) Recondicionamento do disco para a próxima extração.	60
Figura 22 -Microscopia Eletrônica de Varredura da cortiça em pó: (A) magnificação de 800X e (B) magnificação de 1200X.....	64
Figura 23 - Cromatograma obtido com diferentes solventes de dessorção: (A) solução de amônia pH 10, (B) acetonitrila, e (C) metanol. Analitos: MP (1), EP (2), PP (3) e BP (4).	65
Figura 24 - Superfície de resposta triangular para a escolha do solvente de dessorção utilizando cortiça como fase extratora e resposta: A) média geométrica dos picos cromatográficos; (B) eficiência dos picos cromatográficos.....	66
Figura 25 - Superfície Doehlert baseada na média geométrica dos picos: (A) cortiça, (B) argila MMT-IL e (C) C18.	67
Figura 26 - Diagrama de Pareto* obtido pelo planejamento fatorial completo para triagem das variáveis e suas interações na determinação de parabenos utilizando cortiça como fase extratora.....	68
Figura 27 - Otimização univariada para o tempo de extração.	69
Figura 28 - Cromatogramas obtidos para amostras e amostras fortificadas aplicando o método desenvolvido utilizando cortiça como sorvente. A) MP, B) EP, C) PP, e D) BP. Em cada gráfico: a) branco da amostra; b) amostra de água fortificada em 12,5 $\mu\text{g L}^{-1}$ e c) amostra de água fortificada em 25 $\mu\text{g L}^{-1}$	73
Figura 29 - Cromatogramas obtidos para amostras e amostras fortificadas aplicando o método desenvolvido utilizando argila MMT-IL como sorvente. A) MP, B)	

EP, C) PP, e D) BP. Em cada gráfico: a) branco da amostra; b) amostra de água fortificada em $12,5 \mu\text{gL}^{-1}$ e c) amostra de água fortificada em $25 \mu\text{gL}^{-1}$ 74

Figura 30 - Comparação entre RDSE modificada e tradicional: A-1 (circunferência) e A-2 (altura) para o disco modificado e B-1 (circunferência) e B-2 (altura) para o disco tradicional. 80

Figura 31 - Esquema do acoplamento dos agitadores ao regulador de tensão..... 83

Figura 32 - Microscopia Eletrônica de Varredura da cortiça em lâmina: (A) magnificação de 100X, (B) magnificação de 500 e (C) magnificação de 1000X. 85

Figura 33 - Espectro de ATR-FTIR referente a cortiça em lâmina 85

Figura 34 - Análise termogravimétrica para a cortiça em lâmina..... 86

Figura 35 - A) Cromatogramas utilizando a cortiça laminar (preto) em comparação com o pó de cortiça (vermelho). B) Gráfico de barras obtido para a extração dos analitos nos formatos laminar e em pó. Condições: 35 mL de água purificada ultrapura com 200 de $\mu\text{g L}^{-1}$ dos analitos, pH = 6,0, 45 min de tempo de extração e dessorção líquida em 1 mL de metanol durante 20 min..... 87

Figura 36 - Superfície simplex-centróide para otimização de solvente de dessorção. Condições: 35 mL de água purificada ultrapura com 200 de L^{-1} dos analitos, pH = 6,0, 45 min do tempo de extração e dessorção lida em 1 mL durante 20 min. 88

Figura 37 - Superfície Doehlert para determinação do volume ideal de solvente e tempo de dessorção (R: 0,9787). Condições: 35 mL de água ultrapura enriquecida com 200 $\mu\text{g L}^{-1}$ dos analitos, pH = 6,0, 45 min do tempo de extração e dessorção de líquido em 1 mL de MeOH: ETAC (50:50 v / v) por 20 min. 89

Figura 38 - Planejamento fatorial completo (2^3). Condições: 35 mL de água purificada ultrapura com 200 $\mu\text{g L}^{-1}$ dos analitos, dessorção líquida em 1 mL de MeOH: ETAC (50:50 v / v) por 20 min. 90

Figura 39 - Estudo univariado para o tempo de extração para avaliação do parâmetro em tempos menores que 30 minutos. 91

Figura 40 - Aparato para RSE sendo apresentado em uma foto superior e inferior da fase extratora (na parte inferior a barra de agitação magnética é inserida). 100

Figura 41 - Superfície Simplex-Centróide para escolha do solvente de dessorção da metodologia proposta..... 104

Figura 42 - Superfície de resposta para a otimização de tempo e volume de solvente de dessorção	105
Figura 43 - Resposta da otimização da extração para os parâmetros de tempo e adição de sal.....	106
Figura 44 - Comparação de sinais analíticos pelos cromatogramas das técnicas RDSE modificada e RSE.....	107
Figura 45 – Apresentação de (A) RDSE clássico (segunda configuração), (B) RDSE modificada com lâmina de cortiça e (C) nova técnica RSE (utilizada no desenvolvimento da metodologia).....	108
Figura 46 - Cromatograma para aplicação da metodologia para a determinação de pesticidas em amostras de hotifrúti. Analitos: (1) Carbofurano, (2) Molinato, (3) Trifluralina, (4) Atrazina, (5) Tebuconazol	111

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Principais aplicações da técnica RDSE:.....	35
Tabela 2 - Estruturas químicas na superfície da cortiça identificadas pelos espectros de RMN ¹³ C-CP / MAS e FTIR.....	41
Tabela 3 - Informações e Propriedades dos VOCs estudados.....	46
Tabela 4 - Informações e Propriedades dos PAHs estudados.....	47
Tabela 5 - Informações e Propriedades dos Pesticidas estudados.....	49
Tabela 6 - Informações e Propriedades dos contaminantes emergentes estudados.....	53
Tabela 7 - Planejamento Simplex-Centroide para a escolha do solvente(s) de dessorção líquida.....	61
Tabela 8 - Planejamento Doehlert para tempo e temperatura de dessorção.....	62
Tabela 9 - Planejamento Fatorial Completo para o estudo da extração.....	63
Tabela 10 - Condição otimizada para a metodologia utilizando diferentes fases extratoras.....	69
Tabela 11 - Figuras analíticas de mérito para a metodologia proposta utilizando RDSE para diferentes sorventes.....	70
Tabela 12 - Precisão (inter-dia e intra-dia) para extração de parabenos em amostras de águas superficial de rio usando biossorventes.....	71
Erro! A referência de hiperlink não é válida.	
Tabela 14 - Comparação do método proposto com outros relatados na literatura para os mesmos analitos. Todos os estudos utilizaram LC como técnica de separação.	75
Erro! A referência de hiperlink não é válida.	
Tabela 16 - Planejamento Doehlert para tempo e temperatura de dessorção.....	82
Erro! A referência de hiperlink não é válida.	
Tabela 18 - Figuras analíticas de mérito para o método proposto.....	92
Erro! A referência de hiperlink não é válida.	
Tabela 20 - Comparação das características analíticas para o RDSE e outras abordagens de extração sorvente para os analitos com características similares e mesma	

matriz. Técnica de extração: SBSE: Extração sortiva em barra de agitação; SBSD μ E: microextração sortiva-dispersiva em barra de agitação..... 95

Erro! A referência de hiperlink não é válida.

Tabela 22 – Planejamento Doehlert para tempo e temperatura de dessorção.... 101

Erro! A referência de hiperlink não é válida.

Tabela 24 - Parâmetros analíticos de mérito para a metodologia desenvolvida 109

Erro! A referência de hiperlink não é válida.

LISTA DE ACRÔNIMOS

- AC – Acetona;
- ACN – Acetonitrila;
- AcOEt – Acetato de Etila;
- AS-SBSE – Extração Sortiva em barra de agitação assistida por solventes;
- BP – Butilparabeno;
- C18 – Octadecil;
- CAR – Carboxen®;
- DVB – Divenilbenzeno;
- EHPABA – 2-etilhexil-p-dimetilaminobenzoato;
- EP – Etilparabeno;
- GC – Cromatografia Gasosa, do inglês *Gas Chromatography*;
- GC – MS – Cromatografia Gasosa acoplada a espectrometria de massas, do inglês *Gas Chromatography tandem mass spectrometry*;
- HPLC – Cromatografia líquida de alta eficiência, do inglês *High-Performance Liquid Chromatography*;
- ICECLES – Extração sortiva em barra de agitação associada ao congelamento;
- 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*;
- MBC – 3-(4-metilbenzilideno)cânfora
- MMT – IL – Montmorilonita modificada com líquido iônico;
- MP – Metilparabeno
- OMP – Micropoluentes orgânicos, do inglês *organic micropollutants*;
- PA – Poliacrilato
- PAH – Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, do inglês *Polycyclic Aromatic Hydrocarbons*;
- PDMS – Polidimetilsiloxano;
- PP – Propilparabeno
- RDSE – Extração Sortiva em discos rotativos, do inglês *Rotating Disk sorptive extraction*;
- RSE – Extração em sorvente rotativo, do inglês *rotating sorbent extraction*;
- SBSE – Extração Sortiva em barra de agitação
- SIM – Monitoramento por seleção de íon, do inglês *Selected Ion Monitoring*;
- SPE – Extração em fase sólida, do inglês *Solid Phase extraction*;

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

VOC – Compostos orgânicos voláteis, do inglês *volatile organic compounds*.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	19
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	21
2.1. TÉCNICAS DE PREPARO DE AMOSTRA.....	21
2.1.1 <i>Microextração em Fase sólida</i>	23
2.1.2 <i>Extração Sortiva em Barras de agitação</i>	26
2.1.3 <i>Extração Sortiva em Discos Rotativos (RDSE)</i>	29
2.2. USO DE BIOSORVENTES EM PREPARO DE AMOSTRAS	37
2.2.1 <i>Cortiça como material extrator</i>	38
2.2.2 <i>Sorventes e potenciais biosorventes em RDSE</i>	43
2.3. CONTAMINANTES AMBIENTAIS.....	44
2.3.1 Compostos Orgânicos Voláteis	45
2.3.2 Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos	46
2.3.3 Pesticidas	48
2.3.4 <i>Parabenos, Cânfora e EHPABA</i>	52
3. OBJETIVOS	56
3.1. OBJETIVO GERAL	56
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	56
4- EXPLORANDO BIOSORVENTES NA EXTRAÇÃO SORTIVA EM DISCOS ROTATIVOS PARA A DETERMINAÇÃO DE PARABENOS POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA COM IONIZAÇÃO POR ELETROSPRAY <i>TANDEM</i> ESPECTROMETRIA DE MASSAS TRIPLO QUADRUPOLAR.....	57
4.1 MATERIAL E MÉTODOS	57
4.1.1 <i>Reagentes químicos e materiais</i>	57
4.1.2 <i>Amostras Aquosas</i>	58
4.1.3 <i>Instrumentação e condições cromatográficas</i>	58
4.1.4 <i>Preparação das fases extratoras</i>	58
4.1.5 <i>Preparação e condicionamento do sistema RDSE</i>	59
4.1.6 <i>Otimização das condições cromatográficas</i>	60
4.1.7 <i>Otimização do Procedimento RDSE</i>	61
4.1.8 <i>Figuras analíticas de mérito e aplicação do método desenvolvido</i>	63
4.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO	64

4.2.1	<i>Caracterização do material sorvente</i>	64
4.2.2	<i>Otimização das condições de extração para RDSE</i>	65
4.2.2.1	<i>Otimização da etapa de dessorção</i>	65
4.2.2.2	<i>Otimização da Extração</i>	67
4.2.2.3	<i>Parâmetros analíticos de mérito</i>	70
4.3	CONCLUSÕES PARCIAIS	76

5 UMA ABORDAGEM DE ALTA FREQUÊNCIA ANALÍTICA PARA A EXTRAÇÃO SORTIVA EM DISCOS ROTATIVOS (RDSE) UTILIZANDO CORTIÇA EM LÂMINA PARA A DETERMINAÇÃO SIMULTÂNEA DE MICRO-POLUENTES ORGÂNICOS MULTICLASSE EM AMOSTRAS AQUOSAS POR CROMATOGRAFIA GASOSA COM ESPECTROMETRIA DE MASSAS 77

5.2	MATERIAIS E MÉTODOS	77
5.1.1	<i>Reagentes químicos e materiais</i>	77
5.1.2	<i>Amostra aquosa</i>	78
5.1.3	<i>Instrumentação e condições cromatográficas</i>	78
5.1.4	<i>Preparação e caracterização do material sorvente</i>	78
5.1.5	<i>Técnica RDSE modificada contendo a cortiça laminar</i>	79
5.1.6	<i>Otimização do Procedimento RDSE modificado</i>	80
5.1.7	<i>Procedimento de alta frequência analítica</i>	83
5.1.8	<i>Figuras analíticas de mérito e aplicação do método desenvolvido</i>	83
5.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	84
5.2.1	<i>Caracterização do material sorvente</i>	84
5.2.2	<i>Comparação da eficiência de extração utilizando RDSE e RDSE modificada</i> 86	
5.2.3	<i>Otimização das condições da RDSE modificada</i>	87
5.2.3.1	<i>Otimização da dessorção líquida</i>	88
5.2.3.2	<i>Otimização da Extração</i>	90
5.2.3.3	<i>Parâmetros analíticos de mérito</i>	92
5.4	CONCLUSÕES PARCIAIS	97

6 EXTRAÇÃO EM SORVENTE ROTATIVO: UMA NOVA ABORDAGEM ARTESANAL, VERDE E DE BAIXO CUSTO APLICADA PARA A DETERMINAÇÃO DE PESTICIDAS EM ÁGUA DE LAVAÇÃO DE

PRODUTOS DE HORTIFRÚTI POR CROMATOGRAFIA GASOSA E ESPECTROMETRIA DE MASSAS.....	98
6.2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	98
6.1.1 Reagentes químicos e materiais	98
6.1.2 Instrumentação e condições cromatográficas	99
6.1.3 Preparação do material sorvente e desenvolvimento de uma nova técnica.....	99
6.1.4 Otimização do preparo de amostra	100
6.1.5 Comparação da técnica proposta (RSE) e RDSE	102
6.1.6 Figuras analíticas de mérito.....	103
6.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	103
6.2.1 Otimização das condições da ESR	103
6.3.2.2 Otimização da dessorção líquida.....	103
6.1.2.2 Otimização da extração	105
6.2.2 Comparação da eficiência da extração utilizando RSE e RDSE	106
6.2.3 Parâmetros analíticos de mérito	108
6.4 CONCLUSÕES PARCIAIS	111
6.5 RESUMO DAS METODOLOGIAS DESENVOLVIDAS.....	112
7 CONCLUSÕES FINAIS	114
8 REFERÊNCIAS.....	117
9 APÊNDICE	129
9.2 APÊNDICE A	129
9.3 APÊNDICE B	132
9.4 APÊNDICE C.....	134

1. INTRODUÇÃO

A globalização e o desenvolvimento econômico cresceram fortemente nas últimas décadas, sendo necessário melhorar os processos industriais e agrícolas para suprir as necessidades do aumento populacional. No entanto, o consumo de recursos e geração de resíduos decorrentes dos avanços tecnológicos vêm causando impactos consideráveis nos recursos naturais. Além disso, toneladas de produtos de uso diário, como cosméticos e fármacos são utilizados e posteriormente descartados diretamente na rede de esgoto. Devido a dificuldade de se ter um tratamento adequado, esses resíduos ou metabólitos acabam por contaminar solos, água e ar atmosférico.

A água é um recurso natural inestimável pois é responsável pela manutenção de ciclos biológicos, geológicos e químicos do planeta. Além de ser recurso estratégico no desenvolvimento e manutenção econômica. Para que seja possível manter esse recurso fundamental, diversas metodologias são constantemente desenvolvidas visando o controle e a manutenção dos recursos hídricos.

Mesmo com os constantes avanços nas tecnologias de instrumentação analítica (particularmente proeminentes nas últimas décadas), metodologias capazes de garantir a adequação da amostra ao equipamento e detectar níveis traços ainda requerem uma etapa de preparo de amostra. Isso porque essa etapa é responsável por, além de pre-concentrar, garantir resultados confiáveis independentemente da matriz complexa em que a metodologia for aplicada.

Diversas técnicas de preparo de amostra foram apresentadas, desenvolvidas e aplicadas nos últimos trinta anos, sempre visando simplificação, redução do uso de solventes orgânicos e de geração de resíduos – limitações das técnicas clássicas amplamente utilizadas.

A microextração em fase sólida (SPME, do inglês *solid phase microextraction*) surgiu com a vantagem por ser rápida, ter poucas etapas de manipulação e um alto fator de enriquecimento. Porém, sua limitação é a quantidade de fase extratora contida nas fibras. Aproximadamente 10 anos mais tarde, a extração sortiva em barra de agitação (SBSE, do inglês *stir bar sorptive microextraction*) foi desenvolvida. A SBSE é capaz de fornecer limites de quantificação mais baixos quando comparado à SPME devido às maiores quantidades de material extrator que podem ser utilizadas. Entretanto, longos tempos de extração são requeridos, uma vez que altas velocidades de agitação não podem ser aplicadas sem danificar a barra extratora.

Com a finalidade de contornar esse viés, em 2009 Richter e colaboradores desenvolveram a extração sortiva em discos rotativos (RDSE do inglês, *rotating disc sorptive extraction*). Inicialmente, a técnica RDSE foi utilizada para a determinação de nonilfenol, confirmando que o aparato é capaz de permitir velocidades de agitação mais elevadas, diminuindo os tempos de extração.

Apesar de a extração sortiva em discos rotativos já ter sido utilizada no desenvolvimento de diversas metodologias nos últimos 10 anos, a técnica foi minimamente explorada quanto ao seu uso com biossorventes. Além disso, algumas dificuldades da técnica podem ser facilmente observadas, principalmente com relação ao tamanho do aparato. Dessa forma, o objetivo desse trabalho é o desenvolvimento de metodologias baseadas em extração sortiva com diferentes configurações a partir da técnica de RDSE clássica utilizando a cortiça em diferentes formas como pó, lâmina e disco para a determinação de contaminantes orgânicos em matrizes aquosas.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. TÉCNICAS DE PREPARO DE AMOSTRA

O desenvolvimento de métodos de análise tornou-se cada vez mais desafiador nos últimos anos devido a requisitos muito exigentes em termos de confiabilidade, sensibilidade, velocidade de análise e reprodutibilidade do método. O objetivo da metodologia analítica quantitativa é fornecer uma determinação precisa e confiável da quantidade de um analito, geralmente um medicamento ou um metabólito, contaminante emergente ou poluidor em diversos tipos de amostras complexas (NIU et al., 2018).

Entretanto, os efeitos de matriz que interferem na análise, baixa concentração de analito e incompatibilidade com o instrumento analítico faz com que a maioria das metodologias necessite de um preparo da amostra antes da análise instrumental (SOLTANI, 2014). Isso porque, embora as atuais instrumentações estejam altamente seletivas e sensíveis (por exemplo, o espectrômetro de massas equipado com triplo quadrupolo) e sejam menos exigentes em relação às limpezas das amostras, os componentes da matriz presentes nos extratos injetados geralmente têm um efeito negativo no desempenho analítico (isto é, o efeito matriz) do sistema de separação e detecção cromatográfica (MADEJ; KALENIK; PIEKOSZEWSKI, 2018). Na maioria dos casos relatados na literatura, o efeito de matriz pode causar variações de 20 a 50% na quantificação dos analitos (DEME et al., 2014)(HAN et al., 2016); no entanto, para algumas matrizes os valores podem ser consideravelmente maiores, como para o caso de quantificação de pesticidas, apresentando o efeito de matriz algumas dezenas acima de 100% (KOESUKWIWAT et al., 2010).

Dessa forma, o preparo de amostras protege o instrumento analítico de possíveis danos além de fornecer um aprimoramento da seletividade e sensibilidade da análise. Isso porque, o preparo de amostra é de extrema importância para obter os compostos de interesse em uma solução de injeção adequada à instrumentação e capaz de fornecer resultados confiáveis e precisos. No geral, o preparo de amostra tem objetivos substanciais para realizar antes da injeção da amostra; são eles: (KOHLER; SCHAPPLER; RUDAZ, 2013):

- (1) reduzir ou eliminar interferências da matriz ou compostos endógenos indesejáveis;
- (2) aumentar a seletividade do(s) analito(s) alvo(s);
- (3) pré-concentrar a amostra para melhorar a sensibilidade;

(4) estabilizar o analito reconstituindo-a em um solvente inerte.

A extração é a estratégia mais comum em procedimentos analíticos de preparo de amostra para isolar, limpar e pré-concentrar analitos de uma determinada matriz, de modo a permitir a sua compatibilidade com a separação analítica e/ou instrumentação de detecção. Nas técnicas de extração, o material extrator entra em contato com a matriz da amostra e os analitos são transportados entre as duas fases. Os protocolos tradicionais de preparo de amostra geralmente envolvem a extração exaustiva de analitos da matriz, o que é obtido particionando os analitos em solventes líquidos adequados ou sorventes sólidos (REYES-GARCÉS et al., 2018). Em técnicas exaustivas, como extração líquido-líquido (LLE, do inglês *liquid-liquid extraction*) ou extração em fase sólida (SPE, do inglês *solid phase extraction*), a razão de fase extratora e amostra é significativamente maior do que em abordagens de microextração e as geometrias são mais restritivas para garantir a transferência quantitativa eficiente de analitos. O objetivo da extração exaustiva em técnicas tradicionais é alcançar alta sensibilidade e permitir o uso de métodos de calibração diretos validados pela recuperação de picos. Dessa forma, tradicionalmente essas técnicas têm sido altamente empregadas – inclusive em metodologias oficiais (MADEJ; KALENIK; PIEKOSZEWSKI, 2018).

Porém essas técnicas sofrem com algumas limitações e desvantagens, como o consumo de grandes volumes de amostras e solventes orgânicos (na maioria das vezes tóxico ao usuário e ao meio ambiente), e o alto tempo de trabalho manual (necessitando repetir várias vezes a mesma etapa), o que aumenta o tempo total de análise.

Nesse sentido, técnicas de microextração foram introduzidas nas últimas décadas com o objetivo de reduzir ou eliminar essas desvantagens (CHISVERT; BENEDÉ; SALVADOR, 2018). Em princípio, a microextração pode ser definida como um método de extração no qual o extrator (líquido ou sólido) possui um volume substancialmente menor (tipicamente <100 µl ou <100 mg) em comparação com a amostra (> 1 mL); dessa forma, em equilíbrio, a fração extraída do analito é frequentemente desprezível (ou não-exaustiva) (REYES-GARCÉS et al., 2018). Assim, essas técnicas apresentam vantagens interessantes sobre as técnicas convencionais mencionadas anteriormente, sendo possível remover etapas adicionais de limpeza (que podem significar perda de analito e tempo adicional de trabalho) além de reduzir o consumo de solventes orgânicos de mililitros para apenas alguns microlitros (melhorando a seletividade e os fatores de enriquecimento). Pelo fato dessas técnicas de microextração terem ganhado popularidade nos últimos 20 anos, algumas delas

podem ser consideradas bem estabelecidas, possibilitando sua aplicabilidade em análises de rotina e sendo implementadas em laboratórios analíticos oficiais para o monitoramento da vigilância ambiental de diferentes contaminantes emergentes (CHISVERT; BENEDÉ; SALVADOR, 2018).

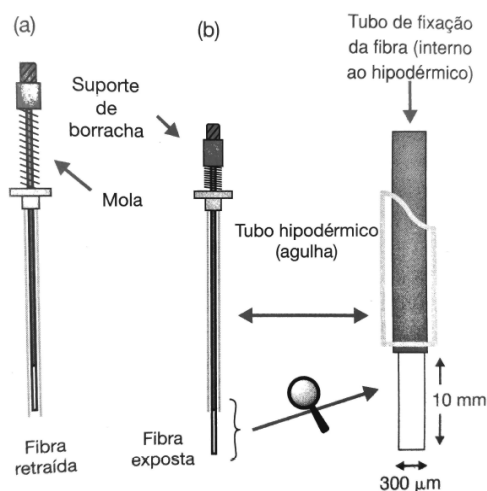
De acordo com o tipo de meio de extração, as técnicas de microextração podem ser classificadas em dois grupos: técnicas de microextração baseadas em sorventes ou solventes.

2.1.1 Microextração em Fase sólida

A primeira técnica proposta foi a microextração em fase sólida (SPME, do inglês *solid phase microextraction*) em 1990 (ARTHUR; PAWLISZYN, 1990), e desde então sua utilização tem sido crescente devido a algumas características interessantes da técnica. A SPME é mais simples e rápida do que as técnicas tradicionais apresentando menor manuseio da amostra e minimizando a introdução de erros. Ela é uma técnica com baixo uso de solventes (diminuindo os resíduos em laboratório) e concentra o analito pela razão favorável entre o volume da amostra e o volume da fase extratora (AUGUSTO et al., 2000). Deve-se enfatizar que, apesar de seu nome, a tecnologia SPME não é uma versão miniaturizada da SPE (REYES-GARCÉS et al., 2018). Ao invés disso, ela é uma tecnologia de extração com taxa de difusão controlada que oferece o enriquecimento eficiente do analito a partir de uma variedade de matrizes usando diferentes modos de utilização dos dispositivos de acordo com a sua aplicação (MIRNAGHI et al., 2013)(BOYACI et al., 2015).

O dispositivo básico de SPME (Figura 1) consiste em um suporte na forma de um bastão recoberto com filmes de no máximo 100 µm de espessura de sorventes. Os mais utilizados são polidimetilsiloxano – PDMS, poliacrilato – PA, Carboxen® – CAR e resina poliestireno-divenilbenzeno – DVB (MESTER; STURGEON; PAWLISZYN, 2001). A Figura 1 representa uma fibra comercial em que o recobrimento tem espessura de 100 µm.

Figura 1 - Dispositivo comercial da fibra de SPME: (a) Posição com a fibra retraída na agulha, (b) posição com a fibra exposta. No detalhe são mostradas as dimensões típicas da fibra comercial com recobrimento de PDMS com 100 μm de espessura.



Fonte: (BORGES; FIGUEIREDO; QUEIROZ, 2015).

Há duas maneiras de expor a fibra de SPME para realizar a extração. No modo em que a fibra é colocada diretamente na amostra (modo de extração direta) e no espaço confinante da fase de vapor – *headspace* (modo de extração através do *headspace*). A extensão da extração depende da partição ou adsorção da espécie de interesse entre a fase extratora e a matriz contendo o analito. Em ambos os casos as moléculas dos analitos migram pela matriz até o recobrimento da fibra. Para recobrimentos como PDMS, em que o mecanismo de extração atua por partição, as moléculas cruzam a interface solvente/matriz se difundindo pelo filme de recobrimento. Para os processos de extração por adsorção (DVB/PDMS e Carboxen®, por exemplo) os analitos são retidos por sítios ativos na superfície do recobrimento ou no interior dos poros onde penetram por difusão. Nos dois casos a extração ocorre até que haja um equilíbrio entre o analito remanescente na amostra, o analito extraído presente na fibra e o analito presente no *headspace* em contato com a amostra. Independentemente de o modo de extração ser direto ou por *headspace*, o modelamento teórico considera a distribuição dos analitos entre as três fases. Isso ocorre porque, mesmo quando a fibra é exposta por imersão direta – e para isso o frasco é preenchido o máximo possível com a amostra – há presença de um *headspace* mínimo próximo à tampa. (PAWLISZYN, 1997).

O tempo necessário para que o equilíbrio de distribuição dos analitos entre a amostra, fibra e o *headspace* seja atingido depende da velocidade em que os analitos migram pelas interfaces. Se não houver agitação no sistema o processo de transferência de massa irá ocorrer apenas por difusão. Os analitos presentes na amostra se difundem através dela até a interface amostra:*headspace* ou amostra:fibra e, quando atingem, cruzam a interface e começam a difundir na nova fase. As taxas de difusão dos analitos dependem dos seus respectivos coeficientes de difusão, os quais por sua vez dependem do volume molar do analito (moléculas pequenas tendem a difundir mais rapidamente); da viscosidade (quanto mais viscosa a fase, mais lenta a difusão) e da temperatura (a taxa de difusão aumenta, conforme aumenta a temperatura do sistema). Atingir o equilíbrio de distribuição do analito na prática necessitaria de tempos de extração extremamente longos (BORGES; FIGUEIREDO; QUEIROZ, 2015).

O transporte de moléculas de analito no interior da amostra pode ser acelerado se for utilizada uma agitação mecânica externa. Isso porque quanto mais rápida for a agitação do meio mais rápida é a convecção e, como consequência, o equilíbrio da extração é mais rapidamente atingido. Porém mesmo com uma agitação intensa, e considerando uma convecção rápida o suficiente para o tempo de trânsito dos analitos ser desprezível pela fase, ainda temos como fator limitante a difusão dos mesmos pelo filme de recobrimento da fibra. Dessa forma, quanto mais espesso for o filme de sorvente, mais lentamente é dado o equilíbrio. Esses casos podem ser observados quando as matrizes são gasosas, isso porque a convecção e difusão pelo meio são extremamente rápidas. Em matrizes aquosas o tempo necessário para o transporte do analito pelo meio não é desprezível mesmo com forte agitação. A porção da matriz em contato direto com a superfície da fibra fica estagnada e não é agitada da mesma forma que o restante da amostra. Essa região é conhecida como camada-limite (do inglês, *boundary layer*) sendo que quanto menor for a espessura dessa camada, mais rápida é a difusão e, conseqüentemente, menor o tempo para se atingir o equilíbrio (REYES-GARCÉS et al., 2018) (PAWLISZYN, 1997).

A extração também pode ser facilitada alterando alguns parâmetros. Para a SPME as principais condições operacionais que podem ser otimizadas e em seguida selecionadas são (ARTHUR et al., 1992):

(1) Seleção da fibra – levando em consideração a seletividade do recobrimento e a afinidade dos analitos pelo material: para espécies hidrofóbicas e de baixa polaridade são preferidas fibras recobertas com material também de baixa polaridade, como o PDMS. Para espécies com maior polaridade, materiais como

poliacrilato (PA) melhoram o mecanismo de extração. Uma maior espessura do recobrimento, como já discutido acima, faz com que a extração e dessorção demandem de mais tempo, porém fornecem uma maior eficiência de extração – uma vez que uma maior quantidade de analitos pode migrar para a fibra. Dessa forma, é necessário definir a necessidade de otimizar uma técnica mais rápida ou com menores limites de detecção(SANTOS; GALCERAN; FRAISSE, 1996).

(2) Seleção do modo de operação: o modo *headspace* é o mais utilizado pois pode ser aplicado a matrizes complexas, como amostras biológicas e sedimentos, apresentando bons resultados de extração sem expor a fibra a risco de dano. O modo de imersão direta (em que a fibra é exposta diretamente na amostra) é utilizado apenas para analitos com baixas pressões de vapor.

(3) Tempo de extração: o ideal deve ser trabalhar com o tempo de extração maior ou igual ao tempo de equilíbrio, ou seja, quando a extração atingir um efeito platô. Porém nem sempre é possível utilizar essa condição, uma vez em que alguns casos esse tempo é extremamente longo e inviável na prática de laboratório.

(4) Temperatura de extração: com o aumento da temperatura a taxa de transferência de massa entre as fases aumenta e, portanto, o equilíbrio é mais rapidamente atingido. Porém, assim como os outros parâmetros, deve-se otimizar experimentalmente uma vez que o aumento da temperatura também reduz a massa transferida do *headspace* para a fibra (GLÁUCIA F et al., 2004).

(5) Adição de sal e tampão: presença de eletrólitos fortes e o pH do meio podem afetar o equilíbrio do sistema. Isso pelo efeito conhecido como *salting out* que na presença de cátions e ânions diminui a solvatação dos analitos pela amostra. Isso facilita a atividade dos analitos e aumenta a eficiência da extração (GLÁUCIA F et al., 2004).

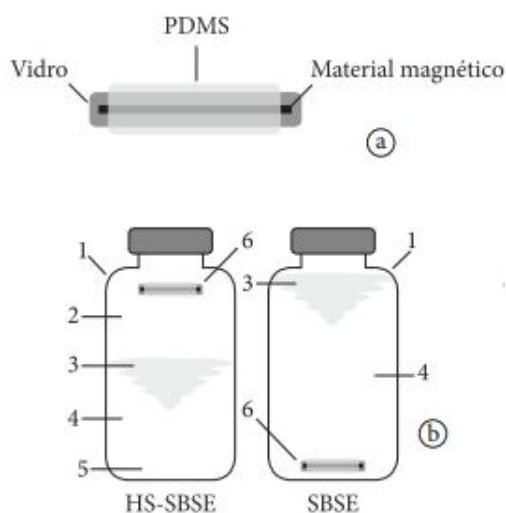
A aplicação da SPME nas últimas décadas tem crescido grandemente, sendo possível utilizar a técnica para matrizes extremamente complexas como amostras ambientais (SOUZA-SILVA et al., 2015a), alimentícias (SOUZA-SILVA et al., 2015b) e biológicas (SOUZA-SILVA; GIONFRIDDO; PAWLISZYN, 2015). Mesmo assim existem algumas limitações quanto a técnica principalmente devido ao pequeno volume de revestimento utilizável e a dificuldade de aplicação para analitos polares.

2.1.2 Extração Sortiva em Barras de agitação

Em 1999 a extração sortiva em barras de agitação (SBSE, do inglês *stir bar sorptive microextraction*) foi proposta na literatura e patenteada como Twister® logo

após sua introdução, completando atualmente 20 anos de comercialização (BALTUSSEN et al., 1999). A técnica é derivada da SPME, seguindo os mesmos princípios, porém tem uma configuração capaz de utilizar quantidades de sorvente de 50 a 250 vezes maiores, fornecendo assim um aumento na sensibilidade quando comparado com a SPME (B. BALTUSSEN; CRAMERS; SANDRA, 2002). O sistema de extração é baseado em um processo de agitação gerado pela barra magnética formando assim um remoinho (Figura 2).

Figura 2 - Representação esquemática da (a) barra de SBSE comercialmente conhecida como Twister® (b) modos relativos à extração sendo 1- Frasco de amostragem; 2- HS; 3- Vortex; 4- Amostra; 5- Barra de agitação magnética em Teflon; 6- Barra de agitação de SBSE.



Fonte: (NOGUEIRA, 2012)

Assim como a SPME, em SBSE há dois modos de extração, sendo um *headspace* e um de imersão direta. No modo *headspace* a barra é suspensa com auxílio de um suporte de arame preso ao septo, sendo necessária assim a utilização de uma segunda barra de agitação magnética no fundo do frasco para promover a convecção na amostra. No modo de imersão direta a própria barra de agitação é recoberta realizando assim a extração e agitação, não sendo necessária a adição de uma segunda barra.

As etapas que necessitam de otimização são diferentes da SPME visto que a técnica apresenta diferente configuração. Os parâmetros de seleção do material e modo de imersão, adição de sal, alteração de pH e tempo são otimizados assim como na SPME, porém a temperatura e agitação devem ser estudadas visando encontrar uma

situação compromisso, uma vez que altas temperaturas e agitação podem danificar a barra (DAVID; OCHIAI; SANDRA, 2019).

As primeiras aplicações da SBSE foram utilizando PDMS como fase extratora para solutos com log P maior que 3, sendo obtidos resultados sensíveis na determinação de compostos odoríferos em vinho (WEN et al., 2018), poluentes em soro humano (BOGGESS et al., 2014), desreguladores endócrinos em leite materno (RODRÍGUEZ-GÓMEZ et al., 2014), entre outras aplicações ambientais e alimentícias. O PDMS tem características únicas, como baixa temperatura de transição vítrea, perfil de sangramento muito baixo em altas temperaturas (permitindo o condicionamento adequado) e excelente difusividade e permeabilidade. Porém, embora as metodologias apresentassem ótimos resultados, eram focadas na extração de analitos não polares ou moderadamente apolares. Com isso, utilizando as mesmas condições, a técnica era mais sensível que a SPME, porém não solucionava a limitação para aplicação em analitos polares (LUCENA, 2012).

Dessa forma, o fator limitante da SBSE clássica são os baixos resultados de recuperação de analitos altamente polares ($\log K_{ow} < 2$) quando aplicadas as barras de agitação de PDMS para a extração. Por isso, diferentes métodos de derivação foram aplicados para aumentar a hidrofobicidade dos analitos e, assim, aumentar o valor do log P. Ao longo dos anos, outros materiais de revestimento foram avaliados e/ou desenvolvidos para maior extração de compostos mais polares. O surgimento de técnicas utilizando revestimentos caseiros, como monólitos, espumas de poliuretano ou outros polímeros são usados principalmente em combinação com a dessorção líquida. Com essas modificações novas metodologias foram desenvolvidas para determinação de fenóis (CACHO et al., 2013), aldeídos (GILART et al., 2013) e tióis (CACHO et al., 2014). Alternativamente, dois outros métodos aplicando as barras de agitação PDMS foram recentemente desenvolvidos para estender a aplicação da SBSE para mais solutos polares: SBSE assistida por solvente (SA-SBSE) e extração sortiva em barra de agitação associada à congelamento (ICECLES) que é baseado na concentração de congelamento (DAVID; OCHIAI; SANDRA, 2019).

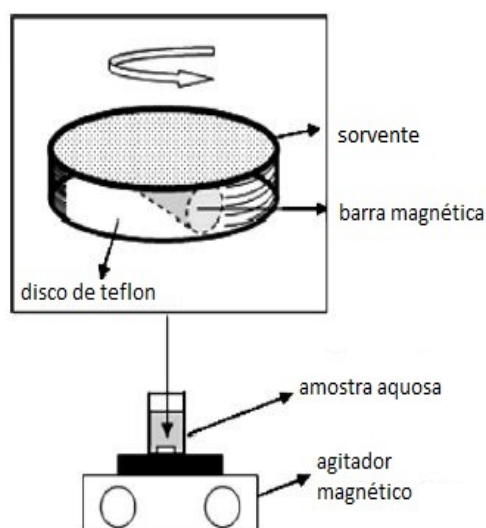
Outro problema associado à técnica SBSE, e relacionado com sua configuração, é o dano causado pelo contato direto do material sorvente com o fundo do frasco de amostra (LIU et al., 2005). Visando eliminar esse problema Richter et al. propuseram em 2009 uma técnica em que, ao invés da barra, um disco magnetizado era utilizado simultaneamente no processo de agitação e extração, sem que a fase extratora tivesse contato com o frasco.

2.1.3 Extração Sortiva em Discos Rotativos (RDSE)

A técnica de extração sortiva em discos rotativos (RDSE, do inglês *rotating disk sorptive extraction*) surgiu como uma nova configuração permitindo imobilizar o PDMS com uma maior área de superfície em contato com a amostra. Essa configuração apresenta a maior vantagem da técnica gerando melhores resultados de extração e concentração dos analitos comparado a técnicas como SBSE (RICHTER et al., 2009). Além da maior área, a fase extratora não fica em contato com o fundo do frasco, dessa forma altas velocidades podem ser aplicadas sem danificar e prejudicar o disco extrator, facilitando assim a transferência de massa do analito para a superfície do PDMS.

A primeira configuração da RDSE surgiu em 2009 sendo representada na Figura 3.

Figura 3 - Primeira configuração da RDSE:



Fonte: Adaptado de (RICHTER et al., 2009).

O dispositivo de extração consiste em um disco de Teflon no qual uma barra de agitação magnética foi incorporada no interior. Na superfície superior foi aderida fase de PDMS utilizando silicone. O disco é conduzido por um agitador magnético comum de laboratório. No trabalho pioneiro, além dos testes de extração com os discos, foi realizado um estudo de comparação da RDSE com barras de SBSE revestidas também com PDMS. A capacidade de extração utilizando os discos e a recuperação do analito apresentaram melhores resultados uma vez que pela maior agitação dos discos a transferência de massa do analito foi facilitada. Além disso, como a fase da superfície não é danificada é possível reutilizar disco por pelo menos 50 experimentos. Outra

vantagem é a facilidade na troca do filme de PDMS por outras fases com maior interação pelo analito alvo.

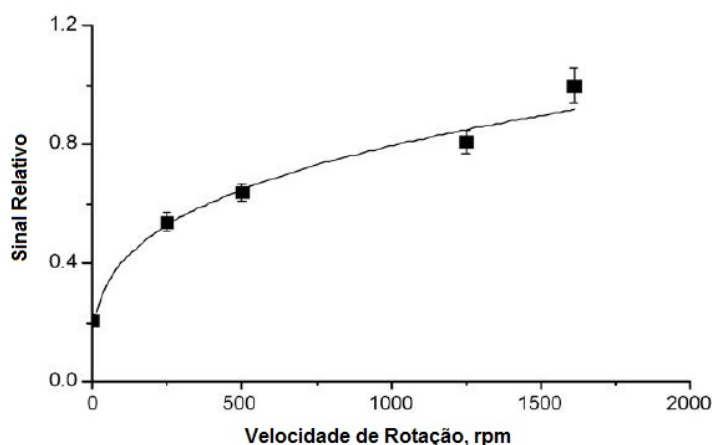
Assim como as outras extrações utilizando fase sólida a recuperação pode ser descrita em termos de recuperação:

$$\text{Recuperação} = \frac{K_{o/w} / \beta}{1 + K_{o/w} / \beta} \quad (1)$$

Onde β corresponde à relação de volume entre amostra e a fase de PDMS. A recuperação teórica para o analito deve ser próxima de 100% com base no volume da amostra e de PDMS. Levando em consideração que a transferência de massa do analito através da camada estagnada em contato com a superfície da película PDMS é o passo determinante da velocidade para a sua extração, a agitação eficiente da amostra que entra em contato com a fase PDMS é obrigatória para alcançar o equilíbrio da partição o mais rápido possível. As observações anteriores sobre a partição de compostos orgânicos entre PDMS e água sugerem que a transferência global de massa de compostos orgânicos de baixa polaridade não está limitada pela difusão interna no PDMS, mas pela difusão na camada aquosa estagnada (MAYER et al., 2005)(RICHTER et al., 2009).

A primeira variável estudada para a configuração do disco foi a velocidade de agitação, por se tratar de uma limitação da SBSE. Dessa forma, o efeito da velocidade de agitação foi avaliado em termos de quantidades extraídas de nonilfenol, como pode ser observado na Figura 4.

Figura 4 - Efeito de velocidade de rotação na quantidade extraída de nonilfenol. As extrações foram feitas utilizando PDMS e a partir de uma solução de amostra de água de 250 mL adicionada com analito a 10 g.L^{-1} e tempo de extração: 20 min.



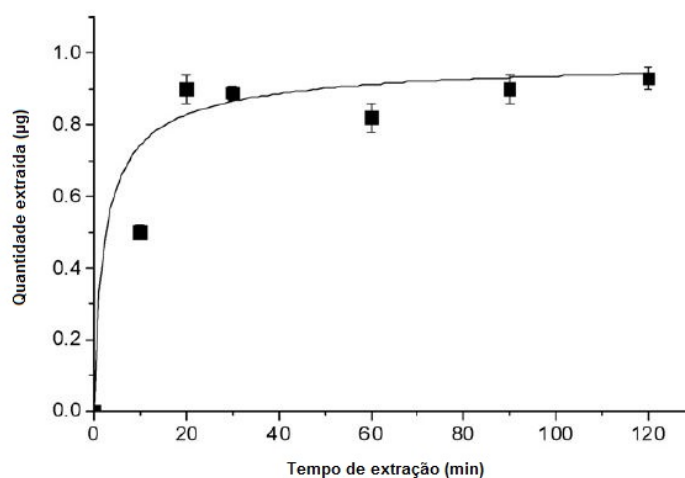
Fonte: Adaptado de (RICHTER et al., 2009)

Conforme observado na Figura 4 a resposta da RDSE é de acordo com o comportamento previsto teoricamente. Com o aumento da velocidade de agitação o sinal relativo de nonilfenol aumenta significativamente. A influência da camada limite diminui com o aumento da agitação e sua relação com o tempo de equilíbrio do analito entre a amostra e a fase sorvente pode ser teoricamente compreendida através da equação:

$$t_e = \frac{3\delta \cdot K_d \cdot P_t}{D} \quad (2)$$

Onde δ é a espessura da camada limite, D é o coeficiente de difusão da solução da amostra, t_e é o tempo de equilíbrio, K_d é o coeficiente de distribuição do analito entre a fase PDMS e a solução e P_t é a espessura da fase PDMS. Conseqüentemente, a redução da camada limite pelo aumento da velocidade de rotação do disco facilita a extração uma vez que o tempo de equilíbrio diminui. Testes experimentais realizados no mesmo trabalho e apresentados na Figura 5 demonstram que utilizando uma rotação de 1250 rpm o equilíbrio é atingido após 20 minutos de extração.

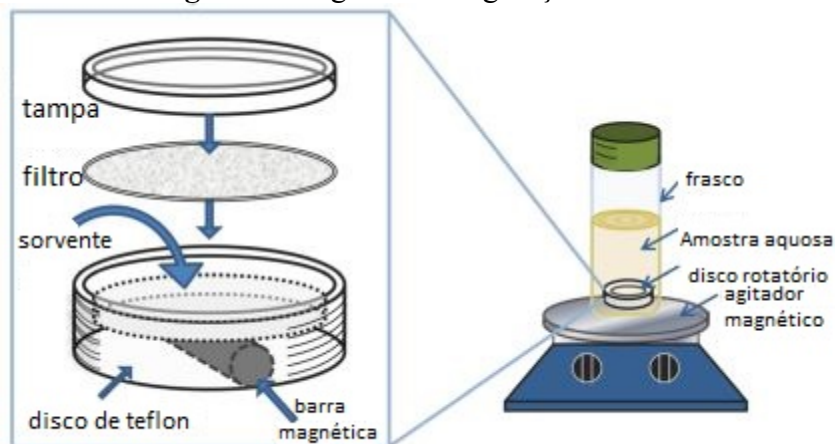
Figura 5 - Efeito do tempo de extração na quantidade extraída de nonilfenol. As extrações foram feitas utilizando PDMS e a partir de uma solução de amostra de água de 250 mL adicionada com analito a 10 g.L^{-1} . Velocidade de rotação: 1250 rpm.



Fonte: Adaptado de (RICHTER et al., 2009).

A maior vantagem da técnica de extração sortiva em discos rotativos é a possibilidade de aplicar grandes velocidades de agitação sem comprometer a fase extratora. Em trabalhos SBSE, nas mesmas condições, foram necessário 60 minutos para extrair nonilfenol em amostras de água (KAWAGUCHI et al., 2004) ao invés de 20 minutos necessários para a RDSE – diferença observada devido as diferenças de configuração das técnicas.

Outra variável importante para o enriquecimento dos analitos é a quantidade de fase extratora. De acordo com a Equação (2) filmes mais espessos aumentam o tempo de equilíbrio, porém influenciam positivamente na taxa de extração. Para comportar maiores quantidades de fase, uma segunda configuração do disco foi desenvolvida em 2014, sendo apresentada na Figura 6.

Figura 6 - Segunda configuração RDSE

Fonte: (CAÑAS; VALDEBENITO; RICHTER, 2014)

Nesta abordagem, o dispositivo de extração RDSE consiste em um disco de Teflon, com uma cavidade que é preenchida com uma fase de sorvente comercial selecionada de acordo com a polaridade do analito. Para evitar a perda do sorvente, a cavidade é coberta com um filtro de fibra de vidro ou celulose e selada com um anel de Teflon. A vantagem dessa nova configuração é a possibilidade de utilizar a fase de extração em maior quantidade e dispersa no interior da cavidade. Aumentando assim a quantidade extraída de analito e facilitando o equilíbrio de transferência de massa devido ao material disperso em contato com a amostra – que pela alta agitação é sempre renovada e tem a camada limite reduzida.

Em uma década de aplicação da técnica de RDSE, vários trabalhos foram propostos para diferentes matrizes, utilizando diferentes instrumentações para a quantificação de diferentes classes de analitos. As principais metodologias são Apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1 - Principais aplicações da técnica RDSE:

Analito	Matriz	Sorvente	Quantificação	Publicação
Hexaclorobenzeno	Água de torneira	Sílica	GC-ECD	(CAÑAS; RICHTER, 2012)
Alquilfenóis e pesticidas	Água de rio	PDMS	GC-MS	(RICHTER et al., 2009)
Cobre (II), Cristal violeta	Água potável e de piscicultura	PDMS	Espectofotometria	(MANZO et al., 2013)
Ibuprofeno e diclofenaco	Urina	C18	HPLC-DAD	(MANZO; MIRÓ; RICHTER, 2014)
HPA's	Água	PDMS	GC-MS	(CAÑAS; RICHTER; ESCANDAR, 2014)
Florfenicol	Plasma	OASIS® HLB	HPLC-DAD	(CAÑAS; VALDEBENITO; RICHTER, 2014)
AINEs	Água residual	OASIS® HLB	GC-MS	(MANZO et al., 2014)
Triclosan e metil triclosan	Água residual e solo	PDMS	GC-MS	(JACHERO et al., 2014)
PCBs	Água residual	MMT-IL	GC-ECD	(FISCAL-LADINO et al., 2017)
pesticidas	Água	OASIS® HLB	UPLC-MS/MS	(DONATO et al., 2017)
Verde malaquita	Água	PDMS	UV-Vis	(RICHTER et al., 2011)
Diclofenaco e ácido mefenâmico	Água residual	DVB	GC-MS	(MANZO et al., 2015)

Continuação Tabela 1

Analito	Matriz	Sorvente	Quantificação	Publicação
Pesticidas	Arroz	DVB/CAR/PDMS	GC-MS	(OMENA et al., 2019)
Pesticidas	Água superficial	PDMS	GC-MS	(GIORDANO; RICHTER; AHUMADA, 2011)
Parabenos	Água	OASIS® HLB	GC-MS	(BECERRA-HERRERA et al., 2018)
Parabenos, hormônios, triclosan e Bisfenol A	Água potável	OASIS® HLB	GC-MS	(ARISMENDI et al., 2019)
PCBs	Resíduo sólido	PDMS	GC-MS	(MENDES et al., 2018)

OASIS HLB: Fase reversa balanceada, hidrofílica-lipofílica; MMT – IL: Montmorilonita modificada por líquidos iônicos; PDMS: Polidimetilsiloxano. C18: Octadecil; DVB/CAR/PDMS: Divinylbenzene/Carboxen/Polydimethylsiloxane.

Embora a técnica apresente diversas aplicações, somente nos últimos anos é que estudos utilizando biossorventes foram realizados (FISCAL-LADINO et al., 2017). Os biossorventes apresentam uma excelente alternativa às fases extratoras comerciais, principalmente pelo baixo custo, diferentes aplicabilidades e serem renováveis e bio disponíveis (CARASEK; MORÉS; MERIB, 2018)

2.2. USO DE BIOSSORVENTES EM PREPARO DE AMOSTRAS

Diversos materiais encontrados na natureza são formados por macromoléculas e apresentam grupos funcionais capazes de interagir com analitos por diferentes fenômenos como troca iônica, complexação e sorção (SOTO et al., 2011).

O carvão ativado é conhecido como adsorvente universal devido a sua ampla aplicação. São compostos de pequena camada hidrofóbica de grafite com superfícies irregulares e heterogêneas com grupos funcionais hidrofílicos. As propriedades adsorventes do carvão ativado dependem da sua composição, propriedades físico-químicas e resistência mecânica podendo ele ser preparado a partir de qualquer material rico em carbono (J. ANTAL JR; GRØNLI, 2003). A adsorção por carvão, por exemplo, é amplamente praticada para a remoção de poluentes, como corantes tóxicos e íons metálicos de águas residuais. Contudo, o carvão comercial ativado tem um alto custo e poderia ser substituído por adsorventes alternativos baseados em biossorventes (CRINI, 2006).

Embora a fonte convencional e mais utilizada seja o próprio carvão, uma série de resíduos agrícolas tem sido proposta como matéria-prima para a produção de novos adsorventes de carbono, incluindo pedras, cascas de frutas (A. PHILIP; S. GIRGIS, 1996), madeira (TANCREDI et al., 2004) melão de açúcar (LEGROURI et al., 2005), côco, amêndoas e nozes (SHOPOVA; MINKOVA; MARKOVA, 1997).

Os biossorventes são derivados de biomassa vegetal, animal, mineral e microbiana e têm um imenso valor no contexto atual de reservas de petróleo em declínio e aquecimento global associado ao uso de polímeros sintéticos. Podem ser polissacarídeos, lipopolissacarídeos, glicolípidos, proteínas ou poli-hidroxicarboxilatos e são passíveis de aplicações ambientais (KALIA; AVÉROUS, 2011).

Os adsorventes minerais incluem materiais provindo de sílica, argila e zeólitas naturais, que também apresentam capacidade de troca iônica (WANG; PENG, 2010) sendo que modificações químicas podem aumentar a afinidade para alguns compostos. Outros materiais de baixo custo para a extração podem ser obtidos a partir

de resíduos industriais e agrícolas, como penas de galinha (BANAT; AL-ASHEH, 2001a), fibras de colágeno de couro (PIN LIAO; LU; SHI, 2003) e resíduos de cabelo humano (BANAT; AL-ASHEH, 2001b).

Outra classe são os adsorventes à base de polissacarídeos. Este grupo inclui a quitina, quitosana, ciclodextrina, amido, amido reticulado, derivados de amido, materiais híbridos, como a ciclodextrina ligada à sílica, tecidos imobilizados em polipropileno, quitosana imobilizada em areia, géis de alginato-quitosano ou derivados de quitosano-ciclodextrina. Os materiais de polissacarídeos mostram versatilidade, estabilidade química, alta reatividade e capacidade de interação com uma variedade de moléculas. Alguns grupos funcionais fornecem excelentes propriedades quelantes e complexantes, permitindo uma regeneração fácil (CRINI, 2006).

Outro material ecológico recentemente introduzido como sorvente para várias técnicas de preparo de amostras é a cortiça, devido às suas propriedades interessantes, uma vez que é renovável, biodegradável e possui alta capacidade de adsorção (DIAS et al., 2013). Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos e pesticidas organoclorados foram determinados usando cortiça como fase de extração em SPME (NEVES DIAS et al., 2015). A cortiça associada à microextração em barras adsorptivas, (BaμE, do inglês *bar adsorptive microextraction*) também foi utilizada para determinação de triclocarban e parabenos (DIAS et al., 2015) demonstrando a vasta aplicação do material.

2.2.1 Cortiça como material extrator

A cortiça consiste na casca exterior do sobreiro, conhecida botanicamente como *Quercus suber L* (Figura 7). O sobreiro tem uma notável capacidade de criar tecido suberoso a partir da sua casca interna, sendo que durante seu ciclo de vida há a produção de três qualidades de tecido suberoso: a cortiça virgem, a cortiça de reprodução do segundo *stripping* e a reprodução da cortiça a partir de tiras subsequentes (SILVA et al., 2005).

Figura 7 - Casca do sobreiro sendo retirada e produção em larga escala de cortiça.



Fonte: (AMORIM, 2017)

A colheita da cortiça e sua utilização apoiam uma das indústrias mais importantes da economia portuguesa e da região do Mediterrâneo. Embora existam muitas aplicações para a cortiça, como aglomerados, revestimentos de pisos e paredes, placas de cortiça de isolamento entre outros (GIL, 2009), a utilização da cortiça em rolhas para engarrafamento de vinho cobrem parte de 60% das vendas e utilização de cortiça no mundo (AMORIM, 2017). Nos últimos anos, diversos materiais sintéticos foram desenvolvidos para utilização em rolha de vinhos, porém relatórios atuais apresentam que as vendas de rolhas naturais aumentaram 8,6% em 2017 (Figura 8).

Figura 8 - Demonstração da forma com que rolhas de cortiça são cortadas da casca.



Fonte: (AMORIM, 2017)

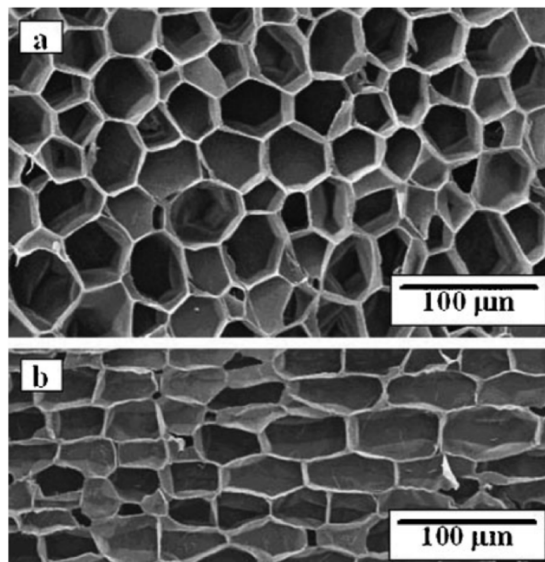
Além da grande utilização industrial, a variedade de recursos que podem ser produzidos ou extraídos da cortiça chamou a atenção de muitos investigadores. A composição química da cortiça é estudada desde o século XVIII (CONDE et al., 1998), no entanto, o conhecimento total das características químicas da cortiça ainda não está completo e muito menos todas as suas potenciais aplicações e transformações. Porém, o que os estudos já reportam é que a cortiça é quimicamente constituída principalmente por suberina e lignina, além de polissacarídeos (celulose e hemicelulose) e extrativos (ceras e taninos) em menor quantidade (F. BENTO et al., 2001)(SILVA et al., 2005). Porém a proporção em que aparecem na composição das células da cortiça é variável, tendo sido determinada por diversos autores com frações de: 45% suberina – 27% lignina – 12% polissacarídeos – 10% extrativos e 5% de cinzas (CALDAS; FERREIRA; BORGES, 1986); 45% suberina – 21% lignina – 13% polissacarídeos – 19% extrativos e 1,2% de cinzas (PEREIRA, 1982) e 38,6% suberina – 21,7% lignina – 18,2% polissacarídeos – 15,3% extrativos e 0,7% de cinzas (PEREIRA, 1988). Estudos apresentam que essas diferenças de composição são características adquiridas de acordo com a região de crescimento (CABRERA, 2002). No entanto, independentemente da localização, os arranjos da estrutura celular são semelhantes, apresentando pequena variação apenas na composição química e razão suberina/lignina, uma vez que polissacarídeos, extrativos e cinzas apresentam proporções sempre próximas, indicando que pequenas diferenças na composição da cortiça não são significativas (SEN et al., 2016), (PEREIRA, 1988) e (LEI; JIA; SONG, 2012).

A cortiça exibe algumas propriedades únicas, devido à sua estrutura celular e composição química, como alto coeficiente de atrito, resiliência, impermeabilidade a líquidos, baixa condutividade térmica, baixa densidade, alta absorção de energia, excelentes propriedades de isolamento e resistência ao fogo (FERNANDES et al., 2010),(PEREIRA, 1988) e (CONDE et al., 1998). A porosidade macroscópica da cortiça é causada por canais lenticulares, ocos e aproximadamente cilíndricos, que atravessam radialmente as tábuas de cortiça (LEQUIN et al., 2009). A prevalência destes canais varia entre árvores e entre diferentes idades de cortiça (SILVA et al., 2005).

A cortiça tem características microscópicas diferentes de outros materiais lignocelulósicos. Sua estrutura é formada por células prismáticas poliedrais ocas, de formato alveolar, quando observadas a partir da direção radial (em relação ao tronco da árvore) e retangulares quando vistas de direções transversais, assemelhando-se a uma

parede de tijolos (Figura 9) (CARROTT; RIBEIRO CARROTT; MOURÃO, 2006), (LEQUIN et al., 2009) e (SILVA et al., 2005).

Figura 9 - Micrografia SEM de cortiça natural (após fervura) – a) uma seção radial; b) seção tangencial.



Fonte: (SILVA et al., 2005)

Em sua superfície, a cortiça apresenta alta afinidade por líquidos não polares (ângulo de contato nulo observado para *n*-alcanos) e polaridade muito baixa. A superfície da cortiça é anfotérica, isto é, compatível com grupos funcionais poliméricos ácidos e básicos (SILVA et al., 2005). As características químicas da superfície da cortiça estão intimamente ligadas à sua composição química, que tem sido estudada tanto por ressonância magnética nuclear de ^{13}C (RMN) quanto por espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), sendo apresentadas na Tabela 2.

Tabela 2 - Estruturas químicas na superfície da cortiça identificadas pelos espectros de RMN ^{13}C -CP / MAS e FTIR.

Picos	Grupo/ Estrutura	Constituinte
^{13}C -CP/MAS NMR		
21 ppm	$\text{CH}^3\text{-COO-}$	Hemicelulose
25-33 ppm	Metileno ($-(\text{CH}_2)_n-$)	Suberina
56 ppm	Metoxil ($-\text{OCH}_3$)	Lignina, suberina e hemicelulose
65-105 ppm	Carbohidratos	Celulose
110-155 ppm	Carbonos aromáticos	Lignina
172 ppm	Esteres ($-\text{COO-}$)	Suberina

Continuação Tabela 2

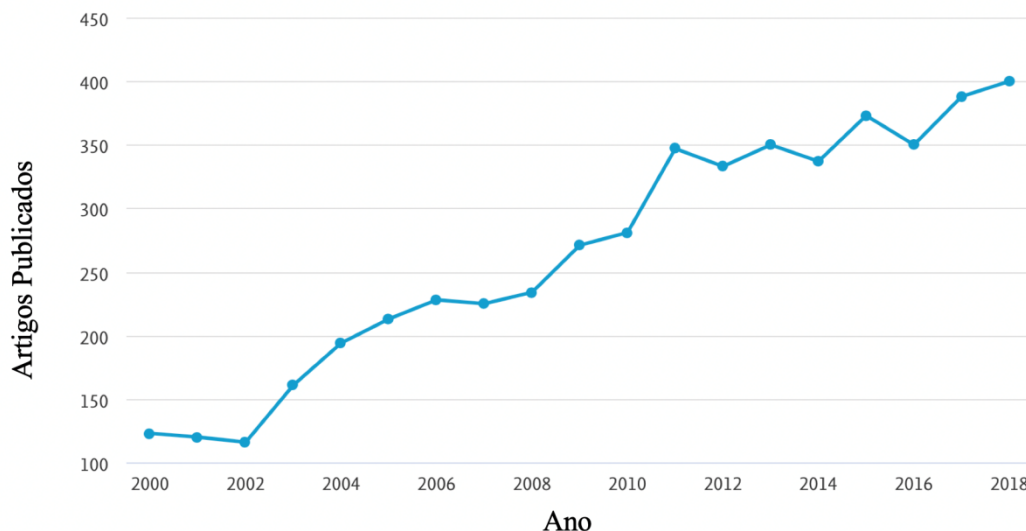
Picos	Grupo/ Estrutura	Constituinte
FTIR		
3425 cm ⁻¹	-OH “estiramento”	Água, hemicelulose, celulose
2919, 2854-2849 cm ⁻¹	-CH ₃ “estiramento” alifático	Suberina
1749-1747, 1719 cm ⁻¹	C=O “estiramento”	Suberina, hemicelulose, celulose
1635, 1607, 1513 cm ⁻¹	C=C “estiramento”	Suberina, lignina, extratos
1466 cm ⁻¹	CH deformação assimétrica	Ligninas
1366 cm ⁻¹	CH deformação simétrica	Extratos vegetais
1267 cm ⁻¹	CO “estiramento”	Suberina, hemicelulose, celulose
1164 cm ⁻¹	CO “estiramento” assimétrico	Suberina, hemicelulose, celulose
1101, 1036 cm ⁻¹	CH, CO deformação	Hemicelulose, celulose

Fonte: Adaptado de (PINTOR et al., 2012)

A remoção adsortiva de metais pesados em águas residuais é geralmente obtida utilizando carvão ativado, alumina ativada ou resinas de polímeros (VILLAESCUSA; MARTÍNEZ; MIRALLES, 2000). Porém, nos últimos anos, após maior conhecimento de sua composição, a cortiça ganhou importância, tornando-se um material atraente para diversas aplicações. A maioria das empresas descartam restos e pó de cortiça, utilizando-os apenas como uma fonte de energia – devido a sua elevada capacidade de combustão (GIL, 1997). Porém, estudos de meados de 2005 já apresentavam a cortiça como um potencial biossorvente, visto que, além do baixo custo, esta apresentava características com fácil aplicação no desenvolvimento de metodologias (SILVA et al., 2005).

Confirmando a projeção dos últimos anos, a cortiça se tornou uma excelente alternativa de baixo custo para a remoção de poluentes em águas (QUESADA et al., 2019); sendo possível observar na Figura 10 um aumento nas publicações com sua utilização. Diversas metodologias foram desenvolvidas, sendo possível encontrar aplicações de cortiça *in natura* e após tratamento térmico para diferentes contaminantes ambientais (MESTRE et al., 2014), (VILLAESCUSA et al., 2011), (DORDIO et al., 2011).

Figura 10 - Evolução do número de publicações em jornais indexados contendo a palavra-chave "cortiça" entre 2000 e 2018.



Fonte: SCOPUS

2.2.2 Sorventes e potenciais biossorventes em RDSE

Extrações utilizando RDSE podem ser realizadas com diferentes tipos de sorventes, principalmente utilizando a segunda configuração da técnica, onde não há necessidade de aderir a fase ao disco. Sorventes comerciais foram utilizados para extrair diversos analitos, como por exemplo Oasis™ HLB para a determinação de fármacos anti-inflamatórios não esteróides em águas residuais (MANZO et al., 2014); C-18 e copolímero de divinilbenzeno-N-vinilpirrolidona para a extração de hormônios de águas residuais (CORROTEA et al., 2015), além de polidimetilsiloxano para a extração de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em amostras de água (CAÑAS; VALDEBENITO; RICHTER, 2014). Polímeros molecularmente impressos (MIP do inglês, *molecular imprinted polymer*) também podem ser utilizados como sorventes por uma série de técnicas. Para extrações utilizando RDSE, MIPs foram usados para determinar diclofenaco e ácido mefenâmico em águas residuais (RICHTER et al., 2009). Mais recentemente, a argila modificada através da intercalação de líquidos iônicos à base de sais de amônio quaternário de imidazólio foi utilizada como sorvente para RDSE. Este tipo de material ecológico exibe boas características para uso como fase de absorção para a determinação de bifenilas policloradas (PCB) em amostras aquosas (FISCAL-LADINO et al., 2017)

Embora diversos sorventes naturais tenham sido aplicados para as mais diferentes técnicas, as metodologias utilizando RDSE e biosorventes foram pouco exploradas, sendo potencial a aplicação da técnica nos próximos anos.

2.3. CONTAMINANTES AMBIENTAIS

Como consequência dos avanços industriais, novos produtos químicos têm sido desenvolvidos e, embora tragam benefícios para a sociedade, esses processos acabam poluindo o meio ambiente (PAL et al., 2014). Além disso, com o aumento do crescimento populacional vem o aumento no consumo de produtos de cuidado diário, medicamentos e uma variedade de outros que, juntamente com os processos industriais utilizados em sua produção, corroboram para a contaminação de águas residuais (BENSON et al., 2017). Os contaminantes gerados são, em sua maioria, bioacumulativos e podem se depositar nos recursos hídricos, colocando em risco a saúde humana. Para alguns dos contaminantes há fiscalização, sendo aplicadas legislações de controle; porém para outros, conhecidos como contaminantes emergentes, ainda há pouca regulamentação na maioria dos países, sendo então tratados recentemente como uma problemática mundial (POYNTON; ROBINSON, 2018).

O termo “compostos orgânicos” abrange compostos orgânicos voláteis (VOCs do inglês, *volatile organic compounds*), compostos orgânicos não-voláteis e poluentes orgânicos persistentes com uma ampla gama de solubilidade na água e meia-vida ambiental (LI; MIGLIACCIO, 2010). Em geral, esses compostos tóxicos são liberados não como constituintes isolados, mas como misturas complicadas que afetam diferentes compartimentos ambientais através de múltiplas rotas. No ambiente, suas interações sinérgicas ou antagônicas resultam em riscos à saúde imprevisíveis, variando de alergias a cânceres (LI; MIGLIACCIO, 2010). Os parabenos, por exemplo, além de associados a cânceres de mama, especula-se que possam influenciar no crescimento e desenvolvimento de tumores (W HARVEY; J EVERETT, 2004) (DARBRE et al., 2004).

Além disso, uma subclasse conhecida como micropoluentes orgânicos (OMPs, do inglês *organic micro-pollutants*) também se tornaram uma questão mundial de crescente preocupação ambiental. OMPs é uma definição operacional para um grupo de compostos constituído por mais de 20 classes que não são cobertos pelos regulamentos de qualidade de água existentes devido às suas concentrações residuais (ou seja, ng L⁻¹ a alguns µg L⁻¹). Sua ocorrência não só aumenta as preocupações

toxicológicas nos ecossistemas, mas também representa ameaça à saúde pública. Isso porque, se presente na água potável, podem causar efeitos adversos em organismos vivos, como genes de resistência a antibióticos, efeitos de desregulação endócrina e mutagênese (LI et al., 2019)(ANJUM; GILL; TUTEJA, 2017).

2.3.1 Compostos Orgânicos Voláteis

Compostos orgânicos voláteis (VOCs) são compostos com um ponto de ebulição de 50-260 °C e uma pressão de vapor de mais de 133,32 Pa, existindo na forma de vapor à temperatura ambiente (BROWN et al., 1994). Os VOCs podem ser provenientes de duas fontes: processos naturais e atividades humanas (fontes antropogênicas). As emissões incontroláveis são principalmente referentes a incêndios florestais e plantas (DUDAREVA et al., 2006)(MONTERO-MONTOYA; LÓPEZ-VARGAS; ARELLANO-AGUILAR, 2018). Já os VOCs que são liberados pelas atividades humanas, são gerados principalmente pelas indústrias e transporte através da queima de combustíveis. Embora em menores quantidades, VOCs também podem ser gerados por outras fontes de combustão, como fumo, fumaça de cozinha, móveis, eletrodomésticos e até emissões do corpo humano (THELOKE; FRIEDRICH, 2007)(SEXTON et al., 2004)(HUANG et al., 2017).

Em um sentido geral, VOC é a matéria orgânica volátil; mas na definição de proteção ambiental refere-se aos compostos orgânicos voláteis altamente reativos, que produzirão danos ao meio ambiente e à saúde humana. Atualmente 188 poluentes atmosféricos perigosos são listados pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (EPA, do inglês *Environmental Protection Agency*), na qual mais de 100 poluentes são VOCs tóxicos, incluindo hidrocarbonetos halogenados, aminas, nitrocompostos e benzenos (ZANG et al., 2019). Os VOCs tóxicos mais comuns são benzeno, tolueno, etilbenzeno e xileno (comumente denotados como BTEX), e foram classificados como carcinogênicos para humanos pela Agência Internacional de Pesquisa sobre Câncer (IARC, do inglês *International Agency for Research on Cancer*) (SEXTON et al., 2004)(ANTTILA et al., 2002). A Tabela 3 apresenta VOCs utilizados nesse estudo seguido da Figura 11 com suas respectivas estruturas químicas.

Tabela 3 - Informações e Propriedades dos VOCs estudados.

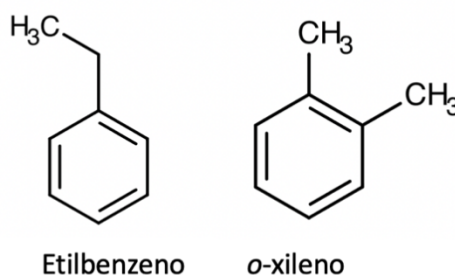
Analitos	Fórmula molecular	^a CAS	Massa Molecular g/mol	^b Log Kow	^c pKa
Etilbenzeno	C ₈ H ₁₀	100-41-4	106.16	3.15	-
<i>o</i> -xileno	C ₈ H ₁₀	106-42-3	106.16	3.15	-

^a Registro único do composto químico.

^b Coeficiente de partição *n*-octanol/água.

^c Constante de ionização.

Fonte: Chemicalize Database

Figura 11 - Estrutura Química dos VOCs estudados no trabalho

Fonte: Chemicalize Database

2.3.2 Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos

Os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (PAHs do inglês, *Polycyclic Aromatic Hydrocarbons*) são poluentes ambientais comuns que são liberados como produtos de processos de combustão incompleta. Eles têm atraído grande preocupação do público por causa de seus efeitos adversos na saúde humana, incluindo carcinogenicidade, teratogenicidade e mutagenicidade (BOSTROM et al., 2002).

Efeitos nocivos à saúde humana após exposição aos PAHs são observados no aumento da morbidade das doenças respiratórias, cardiovasculares e imunológicas. Um grupo particularmente sensível à exposição desses compostos é a gestante e seu feto em desenvolvimento. Os PAHs podem atravessar a barreira placentária e muitos dados publicados indicaram que a exposição pré-natal pode levar ao retardo de crescimento intra-uterino. Além disso, o contato pós-natal pode levar a dificuldades no desenvolvimento além de baixo QI, problemas com comportamento, alergias ou asma (DRWAL; RAK; GREGORASZCZUK, 2019).

A ocorrência de vários compostos de PAHs em todos os principais compartimentos ambientais (por exemplo, ar, água e solo) e os riscos crescentes que

eles apresentam para seres humanos e animais destacam a importância de monitorar precisamente o comportamento desses compostos. Portanto, os métodos de amostragem, pré-concentração e detecção devem ser otimizados (RAZA et al., 2018).

A Agência de Proteção Ambiental dos EUA e a Comissão Europeia classificaram 54 PAHs como resíduos perigosos sendo desses 16 listados como poluentes prioritários devido à sua persistência no ambiente e potencial toxicidade; são eles: naftaleno, acenafteno, fenantreno, fluoreno, antraceno, fluoranteno, pireno, benzo(a)antraceno, criseno, benzo(a)antraceno, benzo(a)fluoranteno, benzo(k)fluoranteno, benzo(a)pireno, indeno(1,2,3-cd)pireno, dibenzo(a, h)antraceno e benzo(g,h,i)perileno. (SHIN; MCKONE; BENNETT, 2013). A Tabela 4 contém os PAHs alvo dos estudos, seguido da Figura 12 com suas respectivas estruturas. Todos os PAHs estudados fazem parte da lista de compostos perigosos determinado pelas agências reguladoras.

Tabela 4 - Informações e Propriedades dos PAHs estudados

Analitos	Fórmula		Massa		
	molecular	^aCAS	Molecular	Log	pKa
			g/mol	Kow	
Acenaftileno	C ₁₂ H ₈	208-96-8	152,106	3,33	-
Fluoreno	C ₁₃ H ₁₀	86-73-7	166,223	3,74	-
Fenantreno	C ₁₄ H ₁₀	85-1-8	178,234	3,95	-
Antraceno	C ₁₄ H ₁₀	120-12-7	178,234	3,95	-
Pireno	C ₁₆ H ₁₀	129-00-0	202,256	4,28	-
Benzo[a]antraceno	C ₁₈ H ₁₂	56-55-3	228,294	4,94	-
Criseno	C ₁₈ H ₁₂	205-923-4	228,294	4,94	-
Benzo(e)acefanantrileno	C ₂₀ H ₁₂	205-99-2	252,316	5,27	-
Benzo(k)fluoranteno	C ₂₀ H ₁₂	207-08-9	252,316	5,27	-
Benzo(a)pireno	C ₂₀ H ₁₂	50-32-8	252,316	5,27	-
Indeno[1,2,3-cd]pireno	C ₂₂ H ₁₂	193-39-5	276,388	5,61	-
Benzo[ghi]pirileno	C ₂₂ H ₁₂	191-24-2	276,338	5,61	-
Dibenzo(a,h)antraceno	C ₂₂ H ₁₄	53-70-3	278,354	5,93	-

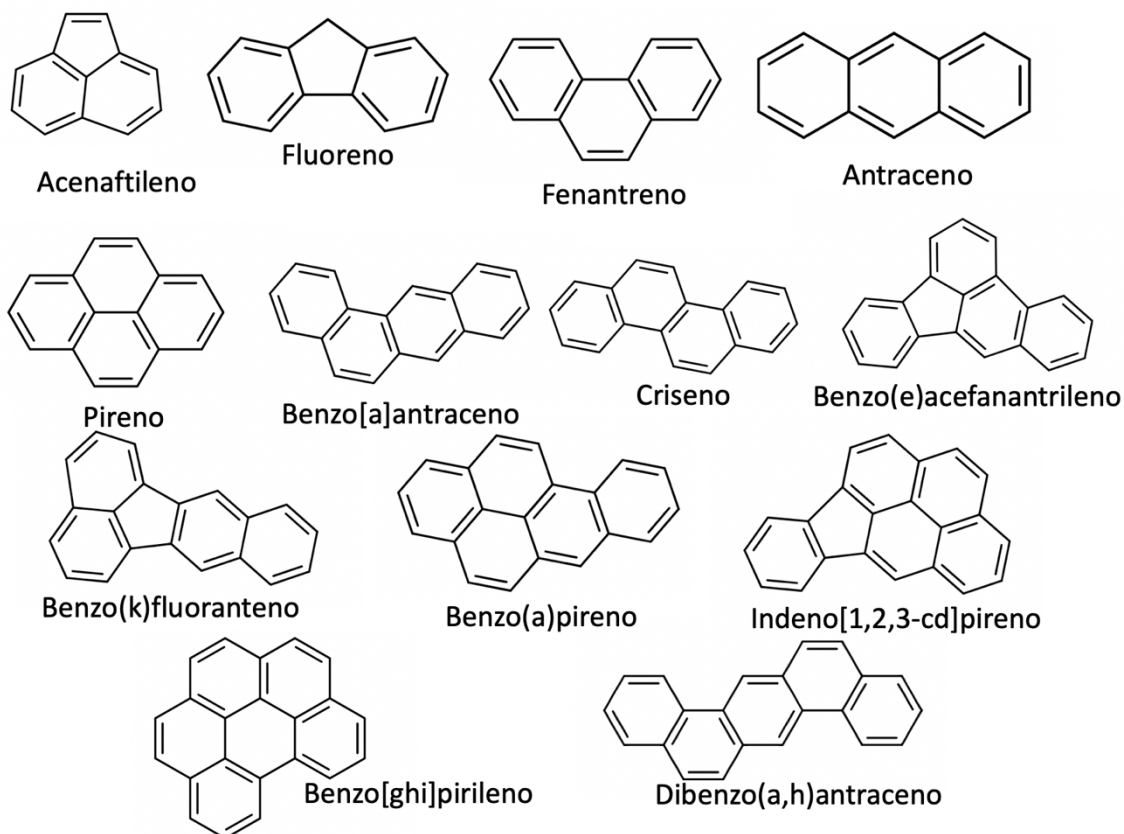
^a Registro único do composto químico.

^b Coeficiente de partição *n*-octanol/água.

^c Constante de ionização.

Fonte: Chemicalize Database

Figura 12 - Estrutura Química dos HPAs estudados no trabalho.



Fonte: Chemicalize Database

2.3.3 Pesticidas

O uso de pesticidas tornou-se um marco para aumento da produção agrícola. Porém com o passar dos anos, seu consumo em todo o mundo atingiu quantidades extremamente elevadas. A maior problemática dos pesticidas é com relação à aplicação e ao armazenamento inadequados desses produtos que geralmente contaminam os tecidos vegetais, o ar, a água ou o solo (RAMAKRISHNAN et al., 2019).

O termo 'pesticidas' é genérico e compreende um grande número de compostos, com alvos muito diferentes, estrutura química e efeitos biológicos (KIM; KABIR; JAHAN, 2017)(FENGA et al., 2014). Ao longo dos anos, um grande número de doenças, agudas e crônicas, tem sido associado à exposição a esses produtos químicos (ALAVANJA; ROSS; BONNER, 2013).

No entanto, vários estudos associaram a exposição a pesticidas específicos (como organofosforados) com o desenvolvimento de patologias crônicas, como câncer e doenças neurodegenerativas (COSTA et al., 2019). O amplo espectro de doenças potencialmente ligadas à exposição a pesticidas destaca a presença de mecanismos patogênicos específicos e não específicos, que incluem o estresse oxidativo (BLESA et

al., 2015). A produção de radicais livres é capaz de induzir danos genômicos, e esse processo pode ser potencializado pela redução do potencial antioxidante do indivíduo (COSTA et al., 2019).

Devido à importância desses compostos e as relações recentes sobre seus males, alguns pesticidas foram selecionados para aplicação no trabalho (Figura 13). Na Tabela 5 são apresentadas informações e propriedades desses analitos. Pendimentalina, Atrazina e Tebuconazol apresentam pka ácido e básico, sendo então apresentado um gráfico de distribuição das espécies nas Figuras 14, 15, 16 e 17.

Tabela 5 - Informações e Propriedades dos Pesticidas estudados.

Analitos	Fórmula molecular	^aCAS	Massa Molecular g/mol	^bLog Kow	^cpKa
Trifluralina	C ₁₃ H ₁₆ F ₃ N ₃ O ₄	1582-09-8	335,283	4,60	-
Pendimentalina	C ₁₃ H ₁₉ N ₃ O ₄	40487-42-1.	281,312	4,82	10,52* 0,07**
Permetrina	C ₂₁ H ₂₀ Cl ₂ O ₃	52645-53-1	391,29	5,70	-
Carbofurano	C ₁₂ H ₁₅ NO ₃	1563-66-2	221,256	2,05	14,76
Molinato	C ₉ H ₁₇ NOS	2212-67-1	187,3	2,34	-
Atrazina	C ₈ H ₁₄ ClN ₅	1912-24-9	215,69	2,20	14,48* 4,2**
Tebuconazol	C ₁₆ H ₂₂ ClN ₃ O	107534-96-3	307,82	3,69	13,85* 2,01**

* pka ácido; ** pka básico

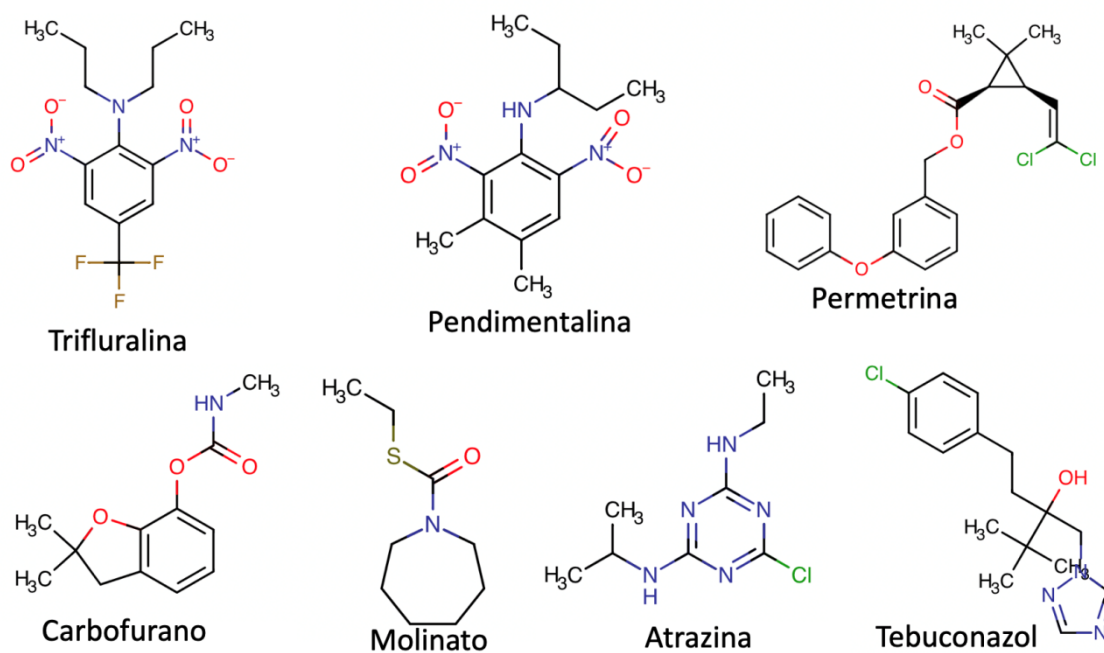
^a Registro único do composto químico.

^b Coeficiente de partição *n*-octanol/água.

^c Constante de ionização.

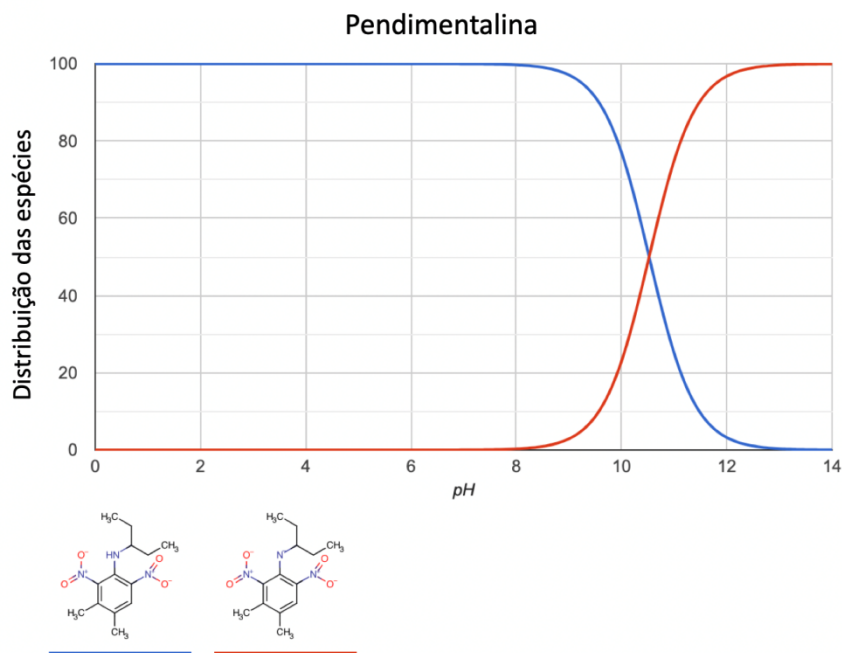
Fonte: Chemicalize Database

Figura 13 - Estrutura Química dos Pesticidas estudados no trabalho.



Fonte: Chemicalize Database

Figura 14 - Gráfico de distribuição das espécies para Pendimentalina.



Fonte: Chemicalize Database

Figura 15 - Gráfico de distribuição das espécies para Carbofurano.

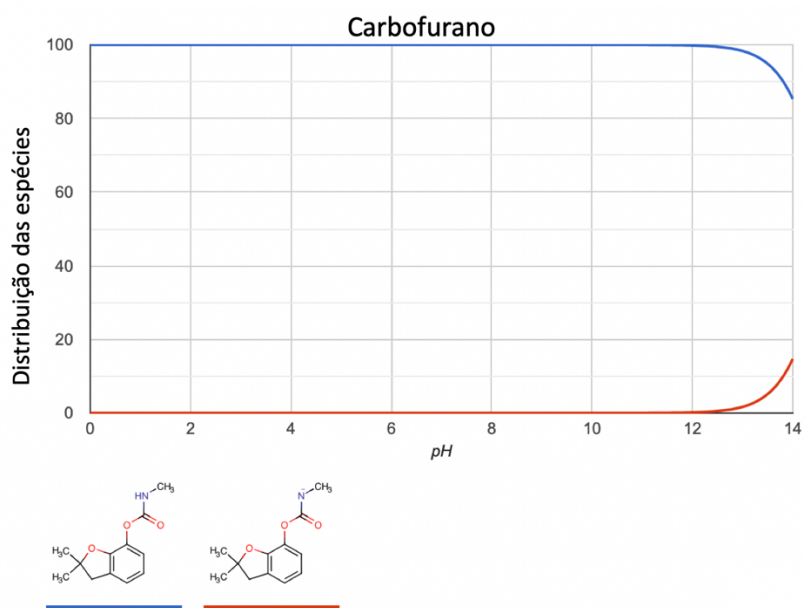


Figura 16 - Gráfico de distribuição das espécies para Tebuconazol.

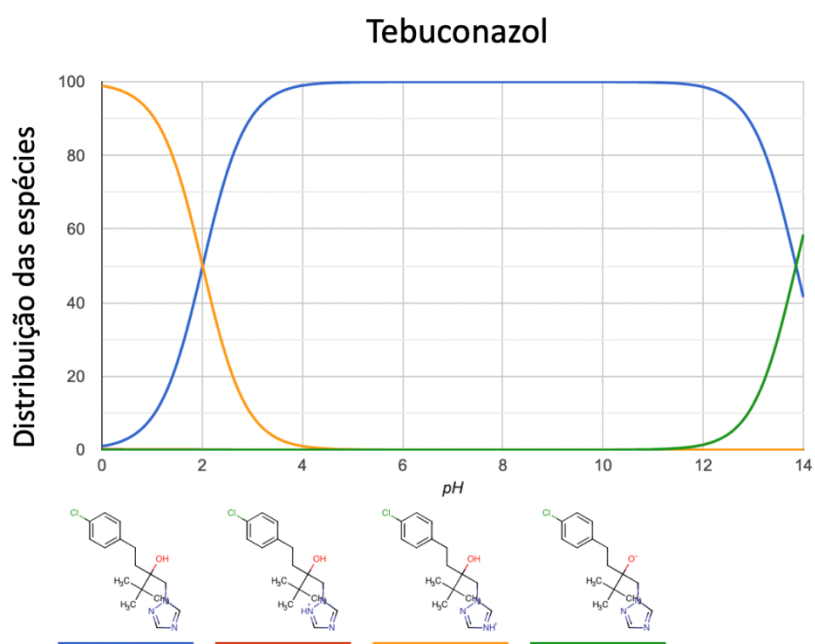
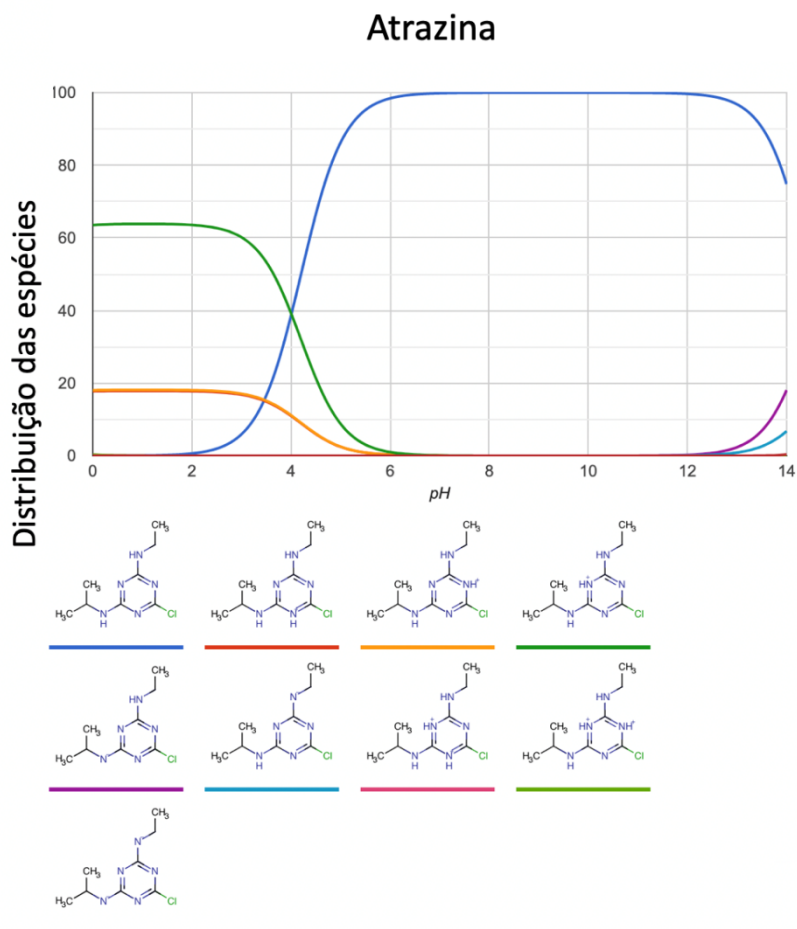


Figura 17 - Gráfico de distribuição das espécies para Atrazina.

2.3.4 Parabenos, Cânfora e EHPABA

Produtos farmacêuticos e de cuidados pessoais (PPCPs) são frequentemente detectados em fontes de água potável (LEUSCH et al., 2019). Esses contaminantes antropogênicos geralmente não são monitorados, mesmo podendo causar efeitos adversos à saúde (PEÑA-GUZMÁN et al., 2019). Para manter um registro de tais contaminantes, a rede NORMAN foi criada. Esta é uma rede permanente de laboratórios de referência, centros de pesquisa e organizações relacionadas para monitoramento e biomonitoramento de substâncias ambientais emergentes (BRACK; DULIO; SLOBODNIK, 2012). Dentro dessa rede, um portal de informações sobre poluentes emergentes foi criado permanentemente em 2005 e, desde 2009, existem laboratórios, centros de pesquisa e organizações que visam especificamente monitorar esses poluentes emergentes. A rede NORMAN identificou mais de 1000 substâncias emergentes (GEISSEN et al., 2015); estas substâncias são classificadas em grupos, incluindo fármacos, drogas ilegais ou de abuso, produtos de higiene pessoal,

desreguladores endócrinos e retardadores de chama (FARRÉ et al., 2008). Parabenos, MBC-Cânfora e EHPABA fazem parte dessa lista de compostos monitorados. Recentemente, alguns contaminantes foram investigados e mencionaram que alguns desses podem persistir no ambiente (os tratamentos convencionais não os eliminam facilmente), além de serem tóxicos e bioacumulativos (EBELE; ABOU-ELWAFAB ABDALLAH; HARRAD, 2017).

Parabenos já foram apontados como desreguladores endócrinos em potencial, embora ainda não haja regulamentação para eles em águas residuais e potáveis no Brasil (DODSON et al., 2012).

Os desreguladores endócrinos são compostos pseudo-persistentes presentes no meio ambiente em concentrações traço mas que estão associados a uma variedade de problemas de saúde, tais como danos reprodutivos, comprometimento do desenvolvimento e câncer em mulheres e homens. Além disso, contribuem para a progressão de algumas desordens metabólicas incluindo obesidade, diabetes e endometriose (GIULIVO et al., 2016).

A Tabela 6 apresenta as estruturas químicas e propriedades físico-químicas dos analitos utilizados neste estudo. As Figuras 18, 19 e 20 apresentam as estruturas químicas e os gráficos de distribuição das espécies de parabenos e EHPABA.

Tabela 6 - Informações e Propriedades dos contaminantes emergentes estudados

Analitos	Fórmula molecular	^aCAS	Massa Molecular g/mol	Log Kow	pKa
Metilparabeno	C ₈ H ₈ O ₃	99-76-3	152.149	1,97	8,5
Etilparabeno	C ₉ H ₁₀ O ₃	120-47-8	166.176	2,47	8,5
Propilparabeno	C ₁₀ H ₁₂ O ₃	94-13-3	180.203	3,04	8,5
Butilparabeno	C ₁₁ H ₁₄ O ₃	94-26-8	194.230	3,57	8,5
EHPABA[*]	C ₁₇ H ₂₇ NO ₂	21245-02-3	277,408	5,11	2,9
MBC^{**}	C ₁₈ H ₂₂ O	36861-47-9	254,373	5,12	-

^{*}2-etilhexil-p-dimetilaminobenzoato; ^{**}3-(4-metilbenzilidano)canfora.

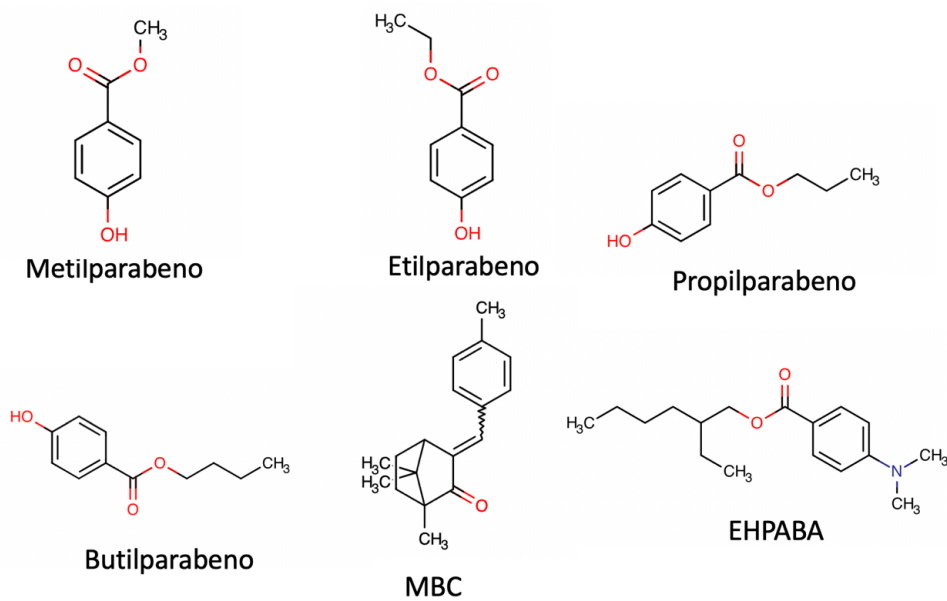
^a Registro único do composto químico.

^b Coeficiente de partição *n*-octanol/água.

^c Constante de ionização.

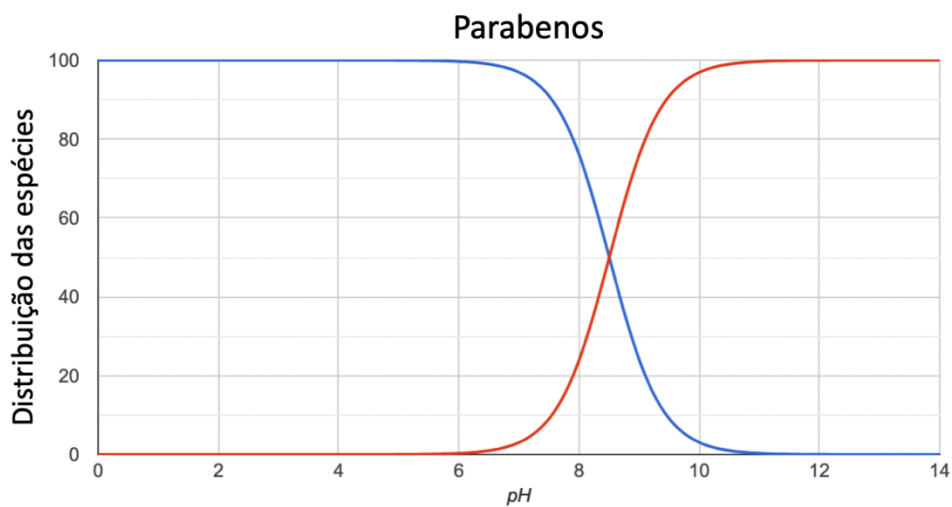
Fonte: Chemicalize Database

Figura 18 - Estrutura Química dos Parabenos, MBC e EHPABA estudados no trabalho



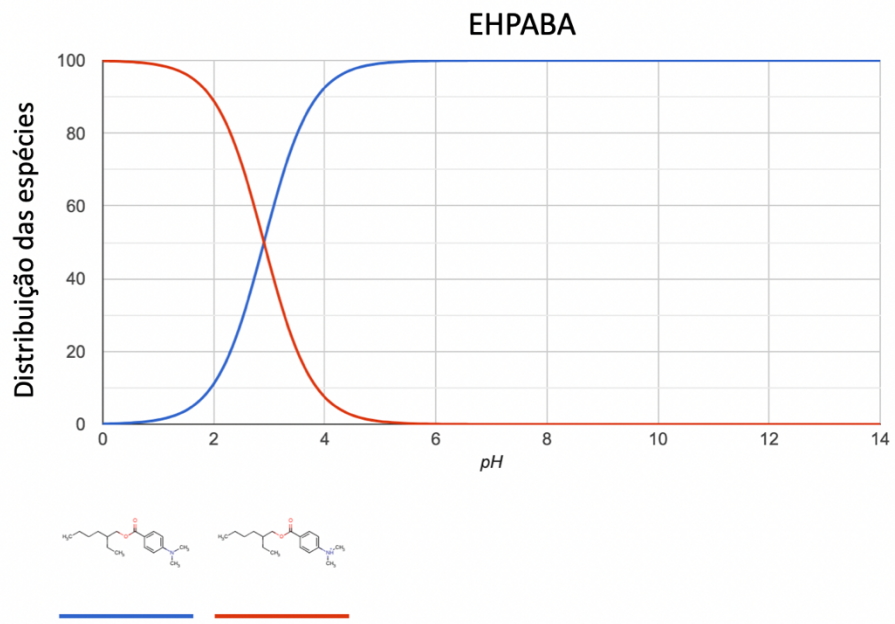
Fonte: Chemicalize Database

Figura 19 - Gráfico de distribuição das espécies para Parabenos.



Fonte: Chemicalize Database

Figura 20 - Gráfico de distribuição das espécies para EHPABA.



Fonte: Chemicalize Database

3. OBJETIVOS

3.1.OBJETIVO GERAL

Desenvolver metodologias baseadas em Extração Sortiva com diferentes configurações a partir da técnica de RDSE clássica utilizando a cortiça em pó, lâmina e disco para a determinação de contaminantes orgânicos em matrizes aquosas.

3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Otimizar as condições de extração por RDSE para a determinação de parabenos em amostras de águas superficiais comparando cortiça, argila modificada e octadecil como fases extratoras por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas;
- Otimizar as condições de extração para a técnica RDSE modificada para uso de cortiça na forma de lâmina para a determinação multiresíduo em amostras de águas superficiais por cromatografia gasosa com detecção por espectrometria de massas;
- Comparar a eficiência da fase extratora laminar com a técnica RDSE clássica aplicando extrações com amostras fortificadas nas mesmas concentrações e nas condições otimizadas individualmente para cada metodologia;
- Otimizar as condições de extração para a nova técnica desenvolvida RSE de discos de cortiça para a determinação de pesticidas em amostras de água de lavagem de verduras e por cromatografia gasosa com detecção por espectrometria de massas;
- Comparar a eficiência da técnica de sorvente rotativo com a modificação laminar de RDSE aplicando as metodologias desenvolvidas para cada técnica em amostras fortificadas na mesma concentração.
- Determinar as principais figuras analíticas de mérito dos analitos para os métodos propostos.

4- EXPLORANDO BIOSORVENTES NA EXTRAÇÃO SORTIVA EM DISCOS ROTATIVOS PARA A DETERMINAÇÃO DE PARABENOS POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA COM IONIZAÇÃO POR ELETROSPRAY *TANDEM* ESPECTROMETRIA DE MASSAS TRIPLO QUADRUPOLAR

Os biosorventes foram pouco explorados em RDSE, por isso o objetivo deste estudo foi avaliar o desempenho de extração e as características analíticas da cortiça e argila modificada, chamada de MMT-IL quando usados na técnica de RDSE. Neste estudo, os compostos determinados foram 4-hidroxibenzoato de metila (MP), 4-hidroxibenzoato de etila (EP), 4-hidroxibenzoato de propila (PP) e 4-hidroxibenzoato de isobutila (BP) presentes em amostras aquosas. Inicialmente, um estudo dos parâmetros da extração foi realizado para os dois biosorventes e um sorvente comercial C-18. Após a otimização individual foi possível realizar uma comparação de eficiência. Além disso, os parâmetros analíticos de mérito foram determinados e as amostras de água superficial foram analisadas.

4.1 MATERIAL E MÉTODOS

4.1.1 Reagentes químicos e materiais

Os padrões analíticos de MP, EP, PP e BP foram adquiridos da Sigma-Aldrich (Milwaukee, WI, EUA) e usados para preparar soluções estoque de 10 mg L⁻¹ em acetonitrila (ACN) obtido de J.T. Baker (Mallinckrodt, NJ, EUA).

As soluções estoque foram usadas para preparar uma solução de trabalho contendo uma mistura de padrões, cada um em uma concentração de 50 µg L⁻¹ em ACN. As soluções tampão foram preparadas usando padrões analíticos de fosfato de sódio dibásico e ácido cítrico, ambos obtidos da Vetec (Rio de Janeiro, Brasil). O efeito *salting-out* foi estudado usando cloreto de sódio obtido da Synth (São Paulo, Brasil). Sorvente comercial C18 da Sigma-Aldrich foi usada para comparação com os biosorventes.

Utilizou-se lixa e peneira granulométrica (200 *mesh*) para preparar o pó de cortiça a partir das rolhas de cortiça usadas. As extrações foram realizadas em frascos com capacidade de 40 mL. Um banho de aquecimento foi empregado na dessorção líquida (Microquímica, Brasil). A água ultrapura usada nos experimentos foi obtida a partir de um sistema Mega Purity (Billerica, EUA).

4.1.2 Amostras Aquosas

As amostras utilizadas para a validação do método proposto foram coletadas em frascos de vidro âmbar com capacidade de 1 L em cinco locais diferentes, armazenadas em refrigeração até posterior análise. As amostras de água do rio foram coletadas no rio Cubatão (coordenadas geográficas -27.68939605 / -48.73518439 e -27.69393742 / -48.7089750) usando um coletor piezométrico e a água da torneira foi coletada de uma casa na mesma região (-27.68117267 / -48.71198922).

Todas as amostras foram obtidas na região metropolitana de Florianópolis, Santa Catarina.

4.1.3 Instrumentação e condições cromatográficas

A análise cromatográfica foi realizada em um Agilent Série LC 1200, sistema de HPLC (Agilent, EUA) equipado com um detector de espectrometria de massas (série triplo quadrupolo API 3200™) com uma célula de colisão LINAC® e uma fonte de ionização Tube V® operada no modo TurbolonSpray®. A fonte de eletropulverização foi operada no modo de ionização negativa. A separação cromatográfica foi realizada em coluna Shimadzu Shim-pack XR-ODS (30 mm x 2,0 mm × 2,2 µm; Shimadzu, Japão) mantida a 30 °C. O sistema cromatográfico e espectrômetro de massa foram operados pelo software Analyst 1.6.2.

A morfologia da cortiça foi investigada por MEV, utilizando um microscópio Philips XL-30. A cortiça não foi submetida a condicionamento térmico ou químico antes de ser usada nas extrações.

4.1.4 Preparação das fases extratoras

A cortiça e a argila modificada que operam através de diferentes processos de sorção foram avaliadas para a extração de parabenos (MP, PP, EP, BP). A argila montmorilonita modificada com líquidos iônicos (MMT-IL) e cortiça utilizada para aplicação como material de sorção foram preparadas conforme relatado anteriormente (FISCAL-LADINO et al., 2017)(DIAS et al., 2013). Resumidamente, as rolhas de cortiça foram acondicionadas num béquer contendo água ultrapura durante 2 h sob agitação ultrassônica. Este procedimento foi repetido até se obter uma água incolor, indicando que as rolhas de cortiça estavam limpas. As rolhas de cortiça foram deixadas num forno a 110 °C durante 12 h. No passo seguinte, o pó de cortiça foi preparado

utilizando lixa e peneira granulométrica (200 mesh). Finalmente, o material foi acondicionado por 15 min com agitação ultrassônica e 250 μL de acetonitrila. O material foi transferido para outro béquer contendo água ultrapura aplicando agitação ultrassônica por 15 min.

Para a preparação da argila, o líquido iônico (IL, do inglês ionic liquid) brometo de 1-hexadecil-3-metilimidazólio (HDMIM-Br) foi sintetizado (FISCAL-LADINO et al., 2017) misturando quantidades equimolares de metilimidazol e 1-bromohexadecano, formando um sólido amarelo. Outros ILs foram testados (hidróxido de 1-hexadecil-3-metilimidazólio (HDMIM-OH), tetrafluoroborato de 1-hexadecil-3-metilimidazólio (HDMIM-BF₄), série 1-butil-3-metilimidazólio (BMIM-Br, BMIM-OH e BMIM-BF₄), série 1-octil-3-metilimidazólio (OMIM-Br, OMIM-OH e OMIM-BF₄) e preparadas seguindo o mesmo procedimento. Para a modificação da argila, dispersou-se 1 g de MMT em 3,0 g de uma solução de ILs. O estudo mostrou melhores resultados em termos de eficiência de extração em argilas modificadas com HDMIM-Br em comparação com outros ILs estudados. Por esse motivo, o MMT-HDMIM-Br foi escolhido para o estudo atual.

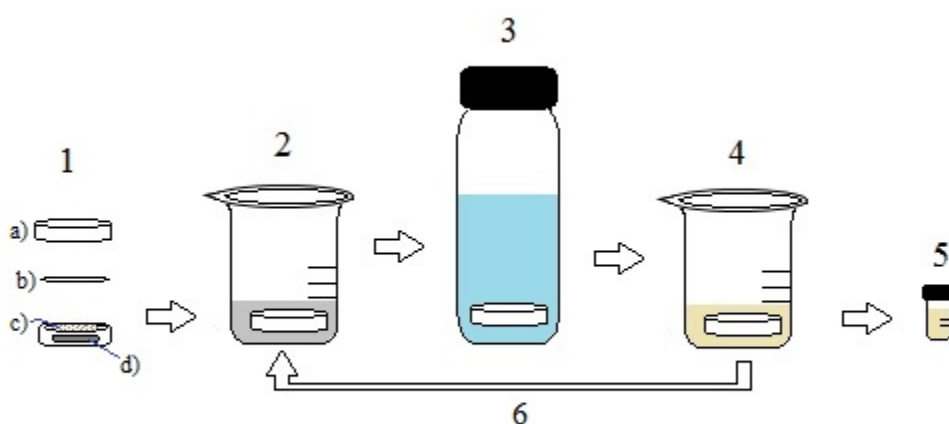
4.1.5 Preparação e condicionamento do sistema RDSE

O método usando a RDSE é ilustrado na Figura 21. O disco rotativo usado neste estudo foi um disco de Teflon (1,5 cm de diâmetro) contendo uma barra de agitação magnética miniatura embutida, adquirida da VWR International (Radnor, PA, EUA). O disco tem uma cavidade de 0,44 cm^3 e foi coberto com papel de filtro quantitativo (tamanho médio dos poros de 2 μm) e selado com anel de Teflon.

Após o condicionamento do material, a extração pode ser realizada. O disco rotativo foi preparado pela adição de 5 mg de cortiça, que corresponde à quantidade máxima deste sorvente permitida pela técnica RDSE, que foi coberta com um filtro de celulose. Para os estudos com argila e C18 foram mantidas a mesma quantidade de cada sorvente (5 mg) para melhor comparação analítica. Após a preparação do disco, foi colocado em um frasco de 40 mL contendo 25 mL da amostra. A amostra foi tamponada e o sal adicionado como requerido para o estudo. Um agitador magnético e um banho de aquecimento foram usados. Após o período de extração, o disco foi retirado e colocado em um béquer com 3 mL de solvente de dessorção (o volume mínimo necessário de solvente para cobrir o disco). O extrato resultante foi colocado em um frasco e submetido a análise sem a necessidade de evaporação e reconstituição.

Após cada extração o disco contendo o material foi preparado para reutilização por meio da aplicação de tratamento ultrassônico por 5 min em um béquer contendo 3 mL do solvente de dessorção. Utilizando este procedimento os biossorventes foram reutilizados em pelo menos 50 ciclos (extração/dessorção) sem perda significativa da eficiência de extração.

Figura 21 – Esquema do procedimento RDSE. 1) Montagem do disco: (a) tampa, (b) filtro de papel, (c) sorvente e (d) barra magnética; 2) condicionamento; 3) extração dos analitos da amostra aquosa; 4) dessorção; 5) Extrato em um frasco para posterior injeção; e 6) Recondicionamento do disco para a próxima extração.



Fonte: Autoria própria (2018)

4.1.6 Otimização das condições cromatográficas

Os parâmetros para a fonte de ionização e a célula de colisão foram otimizados no modo automático por infusão direta das soluções padrão individuais de cada um dos parabenos diretamente no espectrômetro de massas. O modo de varredura em massa foi aplicado por monitoramento de múltiplas reações (MRM). A temperatura da fonte foi de 550 °C e os fragmentos Q1 e Q3 dos analitos foram respectivamente: MP (151/92), EP (165/92), PP (179/92) e BP (193/92).

As misturas contendo os parabenos (50 µg L⁻¹) foram preparadas e injetadas no instrumento para obter o tempo de retenção de cada analito. A fase móvel utilizada inicialmente foi H₂O/ACN (95: 5), em modo gradiente por 3 min, seguida de H₂O/ACN (5:95) por 5 min. Entre as injeções, o sistema foi condicionado com H₂O/ACN (95: 5) por 10 min.

4.1.7 Otimização do Procedimento RDSE

Condições iniciais foram fixadas para estudo: para a extração foi utilizado 25 mL de amostra, tampão pH 4, tempo de extração de 45 minutos à temperatura ambiente e na máxima velocidade de agitação fornecida pelo agitador magnético. Para a dessorção, 3 mL de solvente durante 30 minutos à temperatura ambiente.

Os parâmetros experimentais que podem afetar a extração dos compostos alvo foram investigados como descrito abaixo.

Procedimentos de dessorção líquida: O solvente de dessorção foi investigado com base em um planejamento Simplex-Centroide de doze experimentos para estudar a escolha dos solventes. Foram aplicados uma solução de hidróxido de amônio (pH 10, para garantir a completa ionização dos parabens), ACN e metanol (MeOH) conforme indicado na Tabela 7. O tempo de dessorção foi fixado em 20 min e foram utilizados 3 mL de solvente em cada experimento. Em seguida, o tempo e a temperatura de dessorção foram investigados aplicando um planejamento Doehlert (Tabela 8), avaliando o tempo em cinco níveis (10 a 30 min) e temperatura em três níveis (20 a 40 °C) com a escolha do solvente de dessorção já otimizada. Os dados experimentais dos dois planejamentos foram processados utilizando um programa computacional *Statistica 8.0* e a resposta obtida foi calculada a partir das médias geométricas das áreas dos picos de cada analito.

Tabela 7 - Planejamento Simplex-Centroide para a escolha do solvente(s) de dessorção líquida

Planejamento Experimental – Solvente de Dessorção						
Experimento	Valores codificados			Valores reais (mL)		
	NH ₄ OH	ACN	MeOH	NH ₄ OH	ACN	MeOH
1	1	0	0	3,0	0	0
2	0	1	0	0	3,0	0
3	0	0	1	0	0	3,0
4	0,5	0,5	0	1,5	1,5	0
5	0,5	0	0,5	1,5	0	1,5
6	0	0,5	0,5	0	1,5	1,5
7	0,666	0,166	0,166	2,0	0,5	0,5
8	0,166	0,666	0,166	0,5	2,0	0,5
9	0,166	0,166	0,666	0,5	0,5	2,0
10	0,333	0,333	0,333	1,0	1,0	1,0
11	0,333	0,333	0,333	1,0	1,0	1,0
12	0,333	0,333	0,333	1,0	1,0	1,0

Fonte: Autoria Própria

Tabela 8 - Planejamento Doehlert para tempo e temperatura de dessorção

Planejamento Experimental – Solvente de Dessorção				
Experimento	Valores codificados		Valores reais	
	Temperatura	Tempo	Temperatura (°C)	Tempo (min)
1	0	-1	30	10
2	-0,866	-0,5	20	15
3	0,866	-0,5	40	15
4 (ponto central)	0	0	30	20
5 (ponto central)	0	0	30	20
6 (ponto central)	0	0	30	20
7	-0,866	0,5	20	25
8	0,866	0,5	40	25
9	0	1	30	30

Fonte: Aatoria Própria

Procedimentos de Extração: A significância dos parâmetros foi avaliada usando um planejamento fatorial completo. O tempo de extração (30–60 min), pH da amostra (4-7), velocidade de agitação (velocidade de rotação de 700–1400 rpm) e força iônica (adição de 0–30% m/v de NaCl) foram os parâmetros avaliados neste estudo (Tabela 9). Os dados experimentais do planejamento fatorial completo foram processados usando o programa computacional *Statistica 8.0* e a resposta obtida foi calculada a partir das médias geométricas das áreas dos picos de cada analito.

Tabela 9 - Planejamento Fatorial Completo para o estudo da extração

Planejamento Fatorial Completo								
Exp	Valores codificados				Valores reais			
	Tempo	pH	Agitação	Sal	Tempo	pH	Agitação	Sal
1	-1	-1	-1	-1	30	4	4	0
2	1	-1	-1	-1	60	4	4	0
3	-1	1	-1	-1	30	7	4	0
4	1	1	-1	-1	60	7	4	0
5	-1	-1	1	-1	30	4	8	0
6	1	-1	1	-1	60	4	8	0
7	-1	1	1	-1	30	7	8	0
8	1	1	1	-1	60	7	8	0
9	-1	-1	-1	1	30	4	4	30
10	1	-1	-1	1	60	4	4	30
11	-1	1	-1	1	30	7	4	30
12	1	1	-1	1	60	7	4	30
13	-1	-1	1	1	30	4	8	30
14	1	-1	1	1	60	4	8	30
15	-1	1	1	1	30	7	8	30
16	1	1	1	1	60	7	8	30

Fonte: Autoria Própria

4.1.8 Figuras analíticas de mérito e aplicação do método desenvolvido

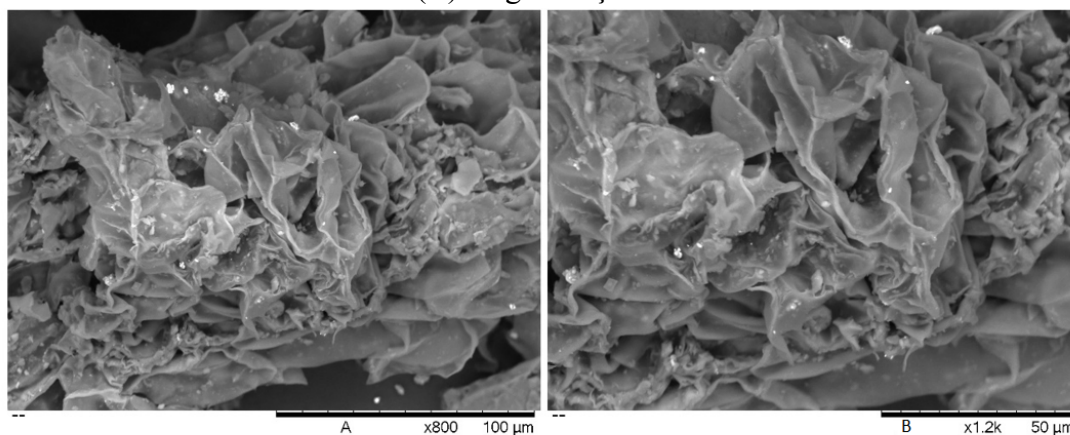
As curvas de calibração para a água do rio foram realizadas adicionando cinco concentrações diferentes de cada parabenol (0,8–75,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ para cortiça, 3–100 $\mu\text{g L}^{-1}$ para argila MMT – IL e 6–50,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ para C18) sendo determinadas com a área do pico *versus* a concentração de analitos em triplicata. O coeficiente linear de determinação (R^2) foi calculado com base nas curvas de calibração. Os LOQs foram adotados como o primeiro nível concentração do intervalo linear para cada analito e os LODs foram obtidos dividindo o LOQ por 3,3. A precisão e exatidão do método foram avaliadas realizando extrações em amostras reais de água contaminadas com os analitos em três diferentes concentrações (0,8, 3 e 25 $\mu\text{g L}^{-1}$ para cortiça; 3, 12,5 e 25 $\mu\text{g L}^{-1}$ para MMT– IL argila). A precisão foi calculada como o RSD obtido da água do rio misturada em três níveis de concentração e a precisão foi verificada através da recuperação relativa dos analitos. Além disso, a aplicabilidade desta metodologia foi avaliada usando três amostras diferentes (duas de rio e uma água da torneira).

4.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.2.1 Caracterização do material sorvente

Em estudos anteriores, nosso grupo de pesquisa já caracterizou a cortiça usada como sorvente (DIAS et al., 2013). Porém as caracterizações foram realizadas após tratamento térmico do material. Então, para complementar essa caracterização, uma análise de microscopia eletrônica de varredura (MEV) foi realizada neste estudo em diferentes ampliações e revelou que a superfície do material possui uma estrutura porosa. Isso explica a natureza de adsorção do material e pode ser visto na Figura 22.

Figura 22 -Microscopia Eletrônica de Varredura da cortiça em pó: (A) magnificação de 800X e (B) magnificação de 1200X.



Fonte: Autoria Própria

Para o segundo bio-sorvente, MMT-IL estudos de caracterização não foram necessários, uma vez que são apresentados de forma bem completa na literatura (FISCAL-LADINO et al., 2017).

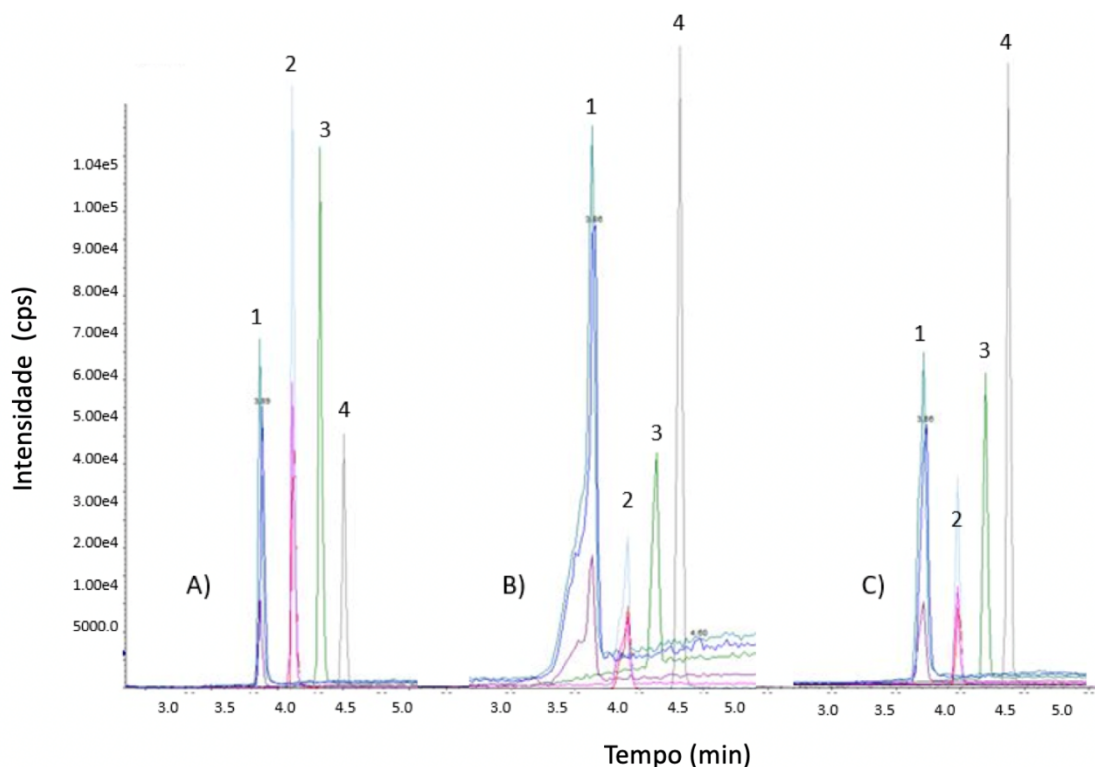
No caso da cortiça, os analitos interagem principalmente por adsorção na superfície sólida do sorvente, enquanto no caso do MMT-IL os analitos são principalmente dissolvidos no líquido iônico imobilizado na argila MMT. Novos estudos têm reportado que o mecanismo de sorção não deve afetar o tempo de equilíbrio, porque a etapa determinante da taxa do processo de extração é principalmente dependente da taxa de transferência do analito através da camada limite, que é a mesma para os dois materiais estudados (FISCAL-LADINO et al., 2017).

4.2.2 Otimização das condições de extração para RDSE

4.2.2.1. Otimização da etapa de dessorção

Para obter boa eficiência na dessorção de parabenos extraídos nos bioissorventes a etapa de dessorção líquida foi otimizada. A Figura 23 mostra os cromatogramas obtidos usando três solventes de dessorção em extrações utilizando a cortiça como sorvente. O mesmo estudo foi realizado com os dois outros sorventes e resultados similares foram obtidos. Como pode ser visto na Figura 23 A, a solução de hidróxido de amônio (pH 10) forneceu um melhor formato e altura de pico para todos os quatro analitos em comparação com os outros dois solventes (Figura 23 B e C). Por outro lado, quando apenas a área do pico é considerada como a resposta para obter a superfície de resposta triangular, o MeOH seria a melhor escolha para o solvente de dessorção (Figura 24 A).

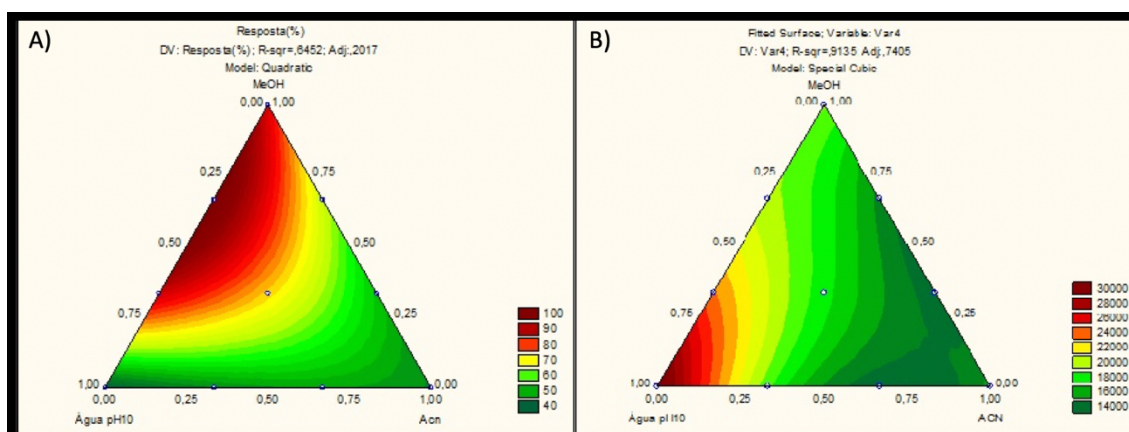
Figura 23 - Cromatograma obtido com diferentes solventes de dessorção: (A) solução de amônia pH 10, (B) acetonitrila, e (C) metanol. Analitos: MP (1), EP (2), PP (3) e BP (4).



Fonte: Autoria Própria

Dessa forma, a superfície de resposta triangular precisou ser plotada não em relação à média das áreas e sim de acordo com a resolução de pico (número de pratos teóricos) (Figura 24 B).

Figura 24 - Superfície de resposta triangular para a escolha do solvente de dessorção utilizando cortiça como fase extratora e resposta: A) média geométrica dos picos cromatográficos; (B) eficiência dos picos cromatográficos.



Fonte: Autoria Própria

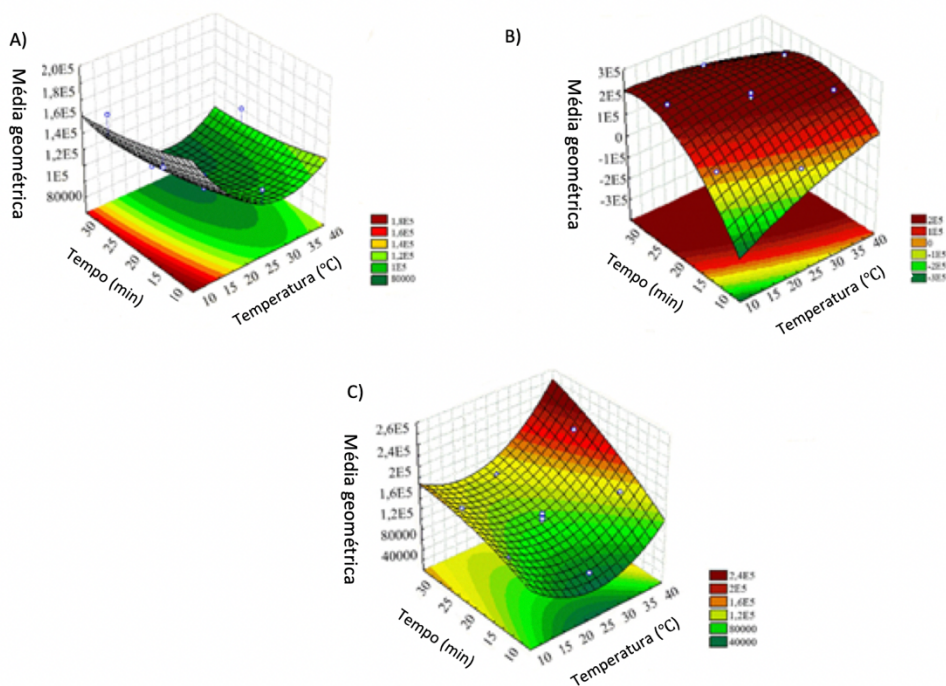
A solução de hidróxido de amônio (pH 10) proporcionou a melhor eficiência para a dessorção de todos os analitos utilizando os três sorventes (a superfície de resposta para argila MMT-IL e C18 podem ser observadas no apêndice A). Como os analitos têm pKa próximo a 8,5, a solução de dessorção em pH 10 permite a ionização completa do grupo funcional -OH na estrutura da molécula dos conservantes (ANGELOV; VLASENKO; TASHKOV, 2007), diminuindo sua lipofilicidade e, portanto, a afinidade para os sorventes aplicados. Embora os parabeno tenham estruturas diferentes, com o aumento de 1 carbono entre eles, essa diferença não altera fortemente o pka. Para metil, etil, propil e butilparabeno, os pks são próximo a 8,5. Valores de pH abaixo de 6 já garantem as espécies todas neutras, enquanto valores acima de pH 10 garantem elas ionizadas.

Continuando os estudos de dessorção, a melhor temperatura e tempo foram obtidos usando o design Doehlert. Um ponto central em triplicata foi realizado para calcular o Desvio Padrão Relativo (RSD do inglês *Relative Standard Deviation*) usando diferentes discos de extração. O tempo de dessorção é uma variável crucial porque os analitos não são suficientemente dessorvidos do sorvente com a aplicação de tempos curtos, enquanto que por longos períodos um processo de reextração (*back-extraction*) pode ocorrer, com algumas moléculas retornando ao sorvente e diminuindo a resposta

instrumental. Da mesma forma, como um aumento na temperatura aumenta tanto a cinética de dessorção quanto a solubilidade em água, essa variável deve ser otimizada para obter a dessorção máxima dos compostos alvo.

A superfície de resposta foi obtida diretamente usando a área média padronizada dos picos cromatográficos. A presença de regiões mais escuras nas superfícies pode ser observada na Figura 25, que corresponde a áreas maiores e ao ótimo comprometimento entre a temperatura e o tempo de dessorção. As melhores respostas foram obtidas aplicando-se as condições de 10 min à temperatura ambiente (20 °C) para cortiça, 20 min a temperatura ambiente (20 °C) para argila MMT-IL e 20 min a 40 °C para C18.

Figura 25 - Superfície Doehlert baseada na média geométrica dos picos: (A) cortiça, (B) argila MMT-IL e (C) C18.



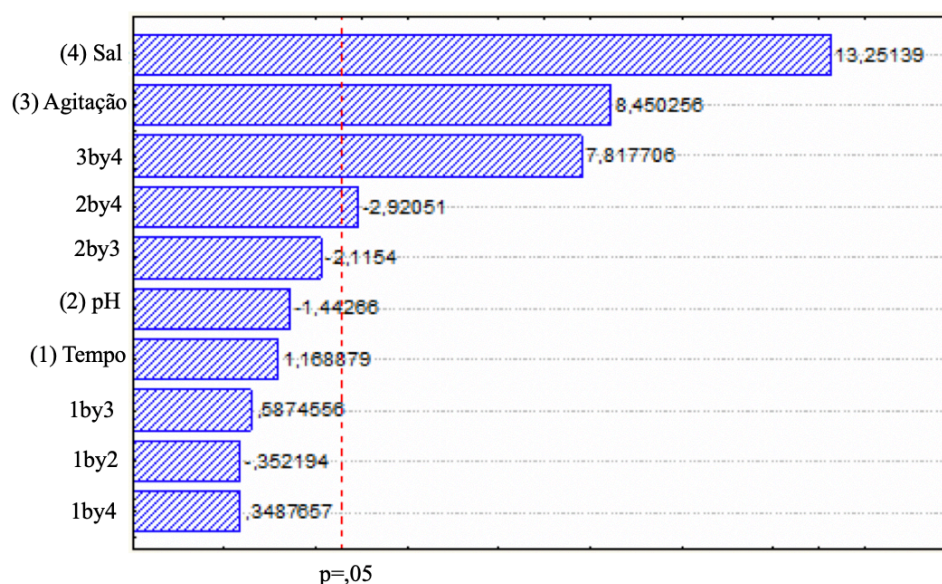
Fonte: Autoria Própria

4.2.2.2 – Otimização da Extração

Para otimizar a extração, um planejamento fatorial completo foi realizado, totalizando 16 experimentos, para obtenção de um gráfico de Pareto. Para a cortiça, o gráfico de Pareto (Figura 26) mostrou que a adição de sal e a agitação são variáveis significativas, bem como a interação entre estas duas variáveis e a adição de sal *versus* o pH da amostra. O uso de sal aumenta a força iônica da solução, levando ao efeito de

salting out, o que facilita a migração do analito da amostra para o sorvente. Um alto grau de agitação aumenta a força cinética e melhora a extração dos analitos. Por outro lado, o pH não foi significativo na faixa de 4-7 porque, como mencionado acima, nesta faixa de pH os analitos são totalmente protonados (forma não-ionizada). Portanto, não é necessário utilizar a adição de tampão na análise de amostras de águas residuais e superficiais em geral.

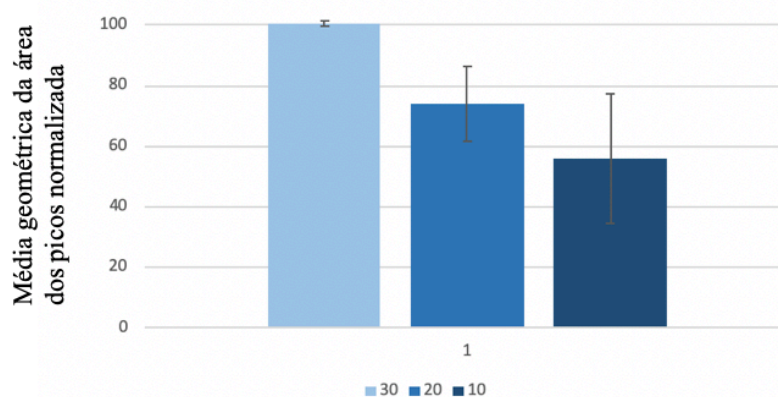
Figura 26 - Diagrama de Pareto* obtido pelo planejamento fatorial completo para triagem das variáveis e suas interações na determinação de parabenos utilizando cortiça como fase extratora.



Fonte: Autoria Própria

* Tabela ANOVA pode ser encontrada no Apêndice A.

Como o tempo de extração não apresentou resultado estatisticamente significativo na faixa de 30 a 60 min, outros estudos utilizando estratégia univariada para tempos de extração mais curtos (10, 20 e 30 min) foram realizados para verificar a possibilidade de aumentar a frequência analítica (Figura 27). Este estudo confirmou a necessidade de usar 30 min como tempo de extração para um bom sinal analítico.

Figura 27 - Otimização univariada para o tempo de extração.

Fonte: Autoria Própria

Resultados semelhantes foram obtidos para extrações utilizando argila MMT-IL e C18 (dados apresentados no apêndice A). Com base nesses resultados, obteve-se uma melhor resposta analítica utilizando a maior quantidade de sal possível (30 g por 100 mL de amostra) e a maior agitação disponível (1400 rpm, sendo a mais rápida oferecida pelo equipamento disponível). A Tabela 10 resume as condições otimizadas de dessorção e extração para cada sorvente.

Tabela 10 - Condição otimizada para a metodologia utilizando diferentes fases extratoras

Sorvente	Extração				Dessorção		
	Quantidade (mg)	Tempo (min)	Sal NaCl (g/100 mL)	Agitação (rpm)	Agitação (rpm)	Tempo (min)	Temp (°C)
Cortiça	5	30	30	1400	1400	10	20
MMT-IL	5	30	30	1400	1400	20	20
C18	5	30	30	1400	1400	20	40

Fonte: Autoria Própria

Ao aplicar as condições otimizadas, resultados positivos foram obtidos para os biossorventes. Utilizando a mesma quantidade de amostra e sorvente dentro do disco, os sorventes renováveis proporcionaram melhores resultados quando comparados com o C18. Isso pode ser atribuído à necessidade de altas temperaturas para a dessorção quando o sorvente C18 comercial é aplicado, enquanto que para os biossorventes o processo pode ser realizado à temperatura ambiente. Portanto, não é necessário aquecer o sistema, eliminando a necessidade de um banho de aquecimento e reduzindo a manipulação necessária e o custo de extração.

4.2.2.3 Parâmetros analíticos de mérito

As figuras analíticas de mérito obtidas neste estudo podem ser visualizadas na Tabela 11. Os coeficientes lineares de determinação (R^2) foram maiores que 0,99 indicando bom ajuste linear. Valores mais baixos para LOD e LOQ foram obtidos quando a cortiça foi utilizada como sorvente, provavelmente por causa do ruído reduzido após a dessorção do analito desta fase.

Tabela 11 - Figuras analíticas de mérito para a metodologia proposta utilizando RDSE para diferentes sorventes.

Analito	Faixa Linear ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Equação da reta	R^2	LOD ^a ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LOQ ^b ($\mu\text{g L}^{-1}$)
Cortiça					
MP	0,8 – 75	$y = 2729,9 x + 16740$	0,9982	0,24	0,8
EP	0,8 – 75	$y = 5350,9 x + 8479$	0,9991	0,24	0,8
PP	0,8 – 75	$y = 3972,1 x + 8997,5$	0,9965	0,24	0,8
BP	0,8 – 75	$y = 11941 x + 32989$	0,9983	0,24	0,8
Argila MMT-IL					
MP	3 – 100	$y = 1729,2 x + 9041,6$	0,9942	0,9	3,0
EP	3 – 100	$y = 923,55 x + 5992,7$	0,9997	0,9	3,0
PP	3 – 100	$y = 4121,3 x + 13745$	0,996	0,9	3,0
BP	3 – 100	$y = 14825 x - 35380$	0,9939	0,9	3,0
C18					
MP	6 – 50	$y = 1643 x + 8918,2$	0,9999	1,81	6,0
EP	6 – 50	$y = 1510,3 x - 1014$	0,9983	1,81	6,0
PP	6 – 50	$y = 4731,5 x - 7700,9$	0,9976	1,81	6,0
BP	6 – 50	$y = 11994 - 12582$	0,9998	1,81	6,0

Fonte: Autoria Própria

^a LOD foi obtido dividindo o LOQ por 3,3

^b LOQ foi adotado como a primeira nível concentração do intervalo linear para cada analito.

A precisão foi avaliada em termos de repetibilidade intra-dia ($n = 3$) e precisão intermediária inter-dia ($n = 6$) em três níveis de amostra fortificada para ambos

os biossorventes. Os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 12. De acordo com a tabela, a precisão intra e inter-dia para o sorvente de cortiça apresentou valores de RSD menores que 15 e 19%, respectivamente. Para o sorvente de argila MMT-IL, os valores de RSD foram inferiores a 19 e 17%.

Tabela 12 - Precisão (inter-dia e intra-dia) para extração de parabenos em amostras de águas superficial de rio usando biossorventes.

Analito	Cortiça			Argila MMT-IL		
	Add* ($\mu\text{g L}^{-1}$)	RSD, intra-dia (%) (n = 3)	RSD, inter-dia (%) (n = 6)	Add* ($\mu\text{g L}^{-1}$)	RSD, intra-dia (%) (n = 3)	RSD, inter-dia (%) (n = 6)
MP	0,8	1,15	4,92	3	18,14	14,38
	3	2,17	2,90	12,5	10,63	9,87
	25	10,43	7,04	25	9,11	8,97
EP	0,8	9,17	6,55	3	8,88	13,25
	3	2,12	11,13	12,5	17,63	14,02
	25	1,45	7,80	25	10,41	9,01
PP	0,8	6,57	7,96	3	13,03	14,87
	3	1,79	8,25	12,5	16,71	16,12
	25	9,08	5,19	25	15,54	12,99
BP	0,8	14,29	18,11	3	9,63	7,95
	3	3,28	8,44	12,5	6,27	4,75
	25	5,07	12,00	25	3,24	7,08

Fonte: Autoria Própria

*concentração de analito fortificado na amostra.

A precisão do método, usando três diferentes concentrações de analito, foi determinada com base nas recuperações relativas usando diferentes discos de extração. As recuperações relativas variaram de 80,3 a 118,7% para a extração realizada com cortiça. Para a extração utilizando argila MTM-IL, as recuperações variaram de 80,0 a 119,9%. Esses resultados são demonstrados na Tabela 13.

Tabela 13 - Recuperações relativas de parabens em amostras de água superficial de rio e de água de torneira usando o método desenvolvido para diferentes sorventes.

Analitos	Add* ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Recuperação (%)		
		Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Cortiça				
MP	sem adição	< LOD	< LOD	< LOD
	0,8	80,3	84,6	109,1
	3	108,6	108,8	92,4
	25	89,7	109,6	115,4
EP	sem adição	< LOD	< LOD	< LOD
	0,8	84,5	82,2	85,6
	3	98,7	90,4	82,7
	25	82,1	108,0	81,4
PP	sem adição	< LOD	< LOD	< LOD
	0,8	86,1	93,9	88,2
	3	104,8	112,9	101,6
	25	115,4	118,7	94,6
BP	sem adição	< LOD	< LOD	< LOD
	0,8	89,3	95,5	83,8
	3	80,5	97,6	99,8
	25	95,1	114,6	100,2
Argila MMT-IL				
MP	sem adição	< LOD	< LOD	< LOD
	3	95,5	91,8	85,8
	12,5	114,9	119,9	100,0
	25	108,4	117,6	97,8
EP	sem adição	< LOD	< LOD	< LOD
	3	103,5	89,3	108,3
	12,5	110,7	103,0	98,2
	25	96,8	84,2	103,4
PP	sem adição	< LOD	< LOD	< LOD
	3	105,7	119,9	112,2
	12,5	80,9	86,1	103,3
	25	90,9	88,5	106,6
BP	sem adição	< LOD	< LOD	< LOD
	3	92,8	94,3	91,1
	12,5	96,0	91,9	86,4
	25	80,0	99,7	88,9

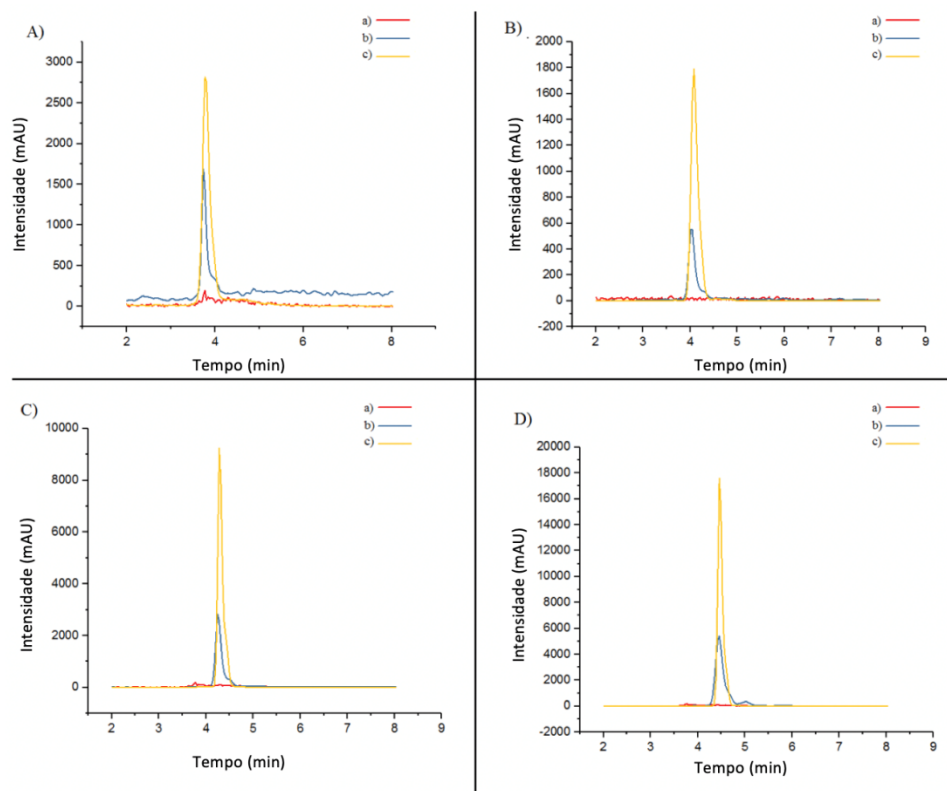
Fonte: Autoria Própria

*concentração de analito fortificado na amostra.

A seletividade do método proposto usando diferentes fases de extração foi confirmada através da análise cromatográfica do extrato obtido da amostra de água de rio sem a adição dos analitos. Nenhum pico apareceu nos tempos de retenção dos

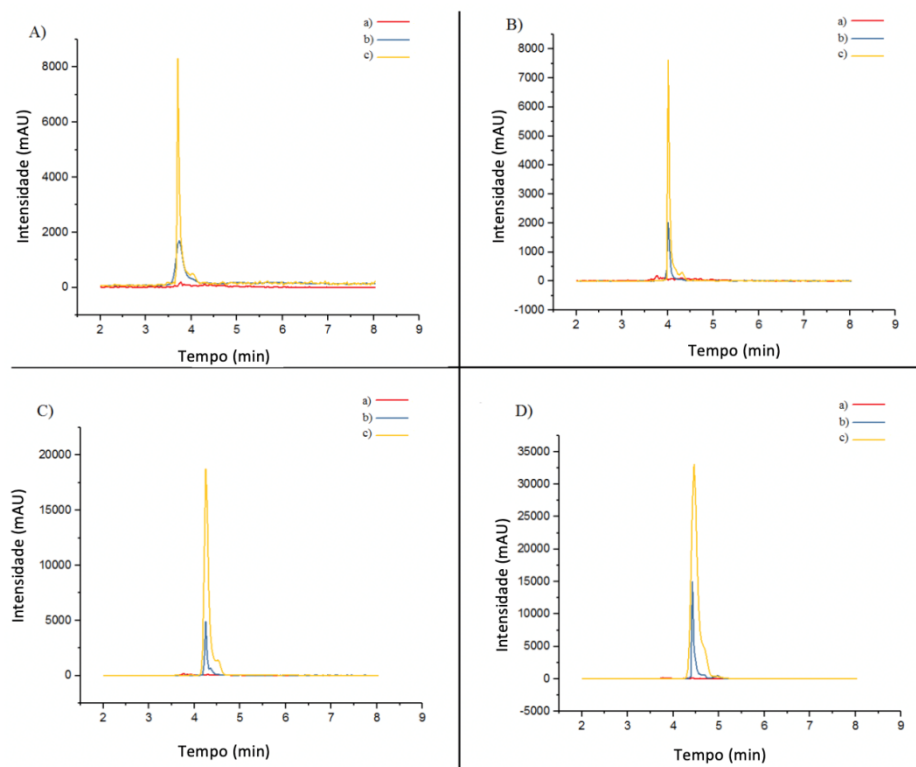
analitos alvo. O método proposto foi aplicado, usando os dois biossorbentes, em três amostras diferentes. Para cada amostra, as concentrações dos analitos estavam abaixo dos LODs, como pode ser visto nas Figuras 28 e 29.

Figura 28 - Cromatogramas obtidos para amostras e amostras fortificadas aplicando o método desenvolvido utilizando cortiça como sorvente. A) MP, B) EP, C) PP, e D) BP. Em cada gráfico: a) branco da amostra; b) amostra de água fortificada em $12,5 \mu\text{g L}^{-1}$ e c) amostra de água fortificada em $25 \mu\text{g L}^{-1}$.



Fonte: Autoria Própria

Figura 29 - Cromatogramas obtidos para amostras e amostras fortificadas aplicando o método desenvolvido utilizando argila MMT-IL como sorvente. A) MP, B) EP, C) PP, e D) BP. Em cada gráfico: a) branco da amostra; b) amostra de água fortificada em 12,5 μgL^{-1} e c) amostra de água fortificada em 25 μgL^{-1} .



Fonte: Autoria Própria

Os cromatogramas das Figuras 28 e 29 apresentam a amostra em branco assim como as amostras adicionadas em dois níveis diferentes de concentração. Além disso, uma comparação dos resultados obtidos neste estudo usando o método proposto com outros relatados na literatura é apresentada na Tabela 14. Pode-se observar que o método proposto forneceu LOQs semelhantes ou melhores em relação aos outros trabalhos citados quando a cortiça é usada como sorvente. A exceção é para o uso do RDSE com o Oasis™ HLB, que apresentou menor LOQ. No entanto, o trabalho reportado precisou de mais duas etapas que envolveram a evaporação do solvente após a dessorção e um método de derivatização com N-metil-N-(trimetilsilil)-trifluoroacetamida (MSTFA).

Tabela 14 - Comparação do método proposto com outros relatados na literatura para os mesmos analitos. Todos os estudos utilizaram LC como técnica de separação

Analito	Preparo de amostra	Método de detecção	LOD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LOQ ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Ref
MP/EP/PP/BP (cortiça/MMT-IL/C18)	RDSE	MS/MS (ESI)	0,24/ 0,90/ 1,81	0,8/ 3,0/ 6,0	Este trabalho
MP/EP/PP/BP	DLLME	UV	0,2 – 0,4	1,0-1000	(SHEN et al., 2017)
MP/EP/PP/BP	SPE	MS/MS (APCI)	0,1 -0,18	0,3 – 0,6	(YE et al., 2006)
MP/EP/PP/BP	Polímero molecularmente impresso	UV	0,028 / 0,026/ 0,021	-	(YOU; PIAO; CHEN, 2016)
MP/EP/PP/BP	LLE, etil acetato	MS/MS (ESI)		0,2 – 2	(ASIMAKOPOULOS et al., 2014)
MP/EP/PP/BP	DLLME	MS (ESI)	7 - 11	11 – 22	(CARRASCO-CORREA et al., 2015)
MP/EP/PP/BP	SPE (strata)	MS/MS	0,08 – 0,3	0,2 – 1	(LEE et al., 2013)
MP/EP/PP/BP	<i>In-tube</i> SPME	MS/MS (ESI)	-	10 – 400	(SOUZA et al., 2016)
MP/EP/PP	SPME protegida por membranas	UV	0,08-0,4	-	(DIAS et al., 2015)

Fonte: Autoria Própria

Os biossorventes parecem representar uma alternativa confiável para aplicação em RDSE, mostrando desempenho analítico muito satisfatório, baixo custo e simples procedimento de fabricação. Além disso, um dos destaques do método desenvolvido é o reaproveitamento de material de extração com pelo menos 50 ciclos de extração (extração/dessorção) realizados sem perda significativa da eficiência de extração. Outra é a solução de dessorção ambientalmente amigável em comparação com solventes orgânicos comumente usados com maior toxicidade.

4.3 CONCLUSÕES PARCIAIS

Neste estudo, o uso de sorventes naturais utilizando RDSE forneceu resultados promissores, em comparação a um sorvente comercial amplamente utilizado. A preparação do sistema contendo o disco é simples e o material sorvente pode ser reutilizado várias vezes. O método desenvolvido pode ser aplicado a amostras complexas (com sólidos suspensos), uma vez que a fase de extração não entra em contato com a amostra. A separação e detecção dos analitos por HPLC-ESI-MS/MS são eficazes e é possível determinar uma faixa de trabalho aplicável para futuras regulamentações brasileiras. O método proposto forneceu bons resultados para linearidade, LOD, LOQ, recuperação e precisão, particularmente utilizando os biossorventes. O método é de baixo custo porque os sorventes naturais podem ser reutilizados em numerosas extrações. Outras vantagens são que nenhum solvente orgânico é requerido durante a preparação da amostra e a corrida analítica é de curta duração, diminuindo a geração de resíduos e aumentando a frequência analítica. Porém a configuração do aparato permite pequenas quantidades de sorventes, sendo possível um melhor desenvolvimento para melhores aplicações.

5 UMA ABORDAGEM DE ALTA FREQUÊNCIA ANALÍTICA PARA A EXTRAÇÃO SORTIVA EM DISCOS ROTATIVOS (RDSE) UTILIZANDO CORTIÇA EM LÂMINA PARA A DETERMINAÇÃO SIMULTÂNEA DE MICRO-POLUENTES ORGÂNICOS MULTICLASSE EM AMOSTRAS AQUOSAS POR CROMATOGRAFIA GASOSA COM ESPECTROMETRIA DE MASSAS

Uma abordagem utilizando RDSE modificada aplicando a cortiça de forma laminar como fase extratora é apresentada neste trabalho. A configuração feita em laboratório para acoplar até seis agitadores magnéticos em uma técnica RDSE modificada foi utilizada para a extração de vinte micro poluentes orgânicos multiclasse (etilbenzeno, *o*-xileno, acenaftileno, fluoreno, trifluralina, fenantreno, antraceno, pendimetalina, 2-etilhexil-*p*-dimetilaminobenzoato (EHPABA), pireno, 3-(4-metilbenzilideno)cânfora (MBC), benzo [a] antraceno, criseno, permetrina, benz (e) acef enantrileno, benzo (k) fluoranteno, benzo (a) pireno, dibenzo (a, h) antraceno, indeno [1,2,3-cd] pireno e benzo [ghi] perileno) de amostra aquosa com separação e detecção por GC-MS. A metodologia foi aplicada em amostra de água de rio da Grande Florianópolis. Uma metodologia de alta frequência analítica nunca antes foi proposta para RDSE, se tornando uma interessante alternativa.

5.2 MATERIAIS E MÉTODOS

5.1.1 Reagentes químicos e materiais

Padrões analíticos de vinte analitos (etilbenzeno, *o*-xileno, acenaftileno, fluoreno, trifluralina, fenantreno, antraceno, pendimetalina, 2-etilhexil-*p*-dimetilaminobenzoato (EHPABA), pireno, 3-(4-metilbenzilideno)cânfora (MBC), benzo [a] antraceno, criseno, permetrina, benz (e) acephenanthrylene, benzo (k) fluoranteno, benzo (a) pireno, dibenzo (a, h) antraceno, indeno [1,2,3-cd] pireno e benzo [ghi] perileno) foram adquiridos pela Sigma-Aldrich (Milwaukee, WI, EUA) e foram usados para preparar soluções estoque únicas de 100 mg L⁻¹ em metanol obtido da Merck (Rio de Janeiro, RJ, Brasil). Após a preparação individual, uma solução de trabalho contendo todos os analitos na concentração de 10 mg L⁻¹ foi obtida em metanol. As soluções tampão - ácido cítrico e fosfato de sódio dibásico - utilizadas no ajuste do pH foram adquiridas da Vetec (Rio de Janeiro, Brasil). Cloreto de sódio obtido em Synth (São Paulo, Brasil) foi utilizado para os estudos de efeito de *salting out*.

Acetato de etila (AcOEt) e acetona (AC) grau HPLC foram adquiridos da Merck (Kenilworth, NJ, EUA). Além disso, a água ultrapura (18,2 M Ω cm) foi purificada pelo sistema de purificação de água Mega Purity (Billerica, MA, EUA).

Para as extrações, seis agitadores magnéticos (Fisatom, SP, Brasil) foram conectados a um regulador de tensão Variac TDGC2-1 1KVA / 4 AMP (EXA Instruments, SP, Brasil) por régua de energia (NBR 20605, Power Line). Um multímetro digital ET-1002 (Minipa, SP, Brasil) foi usado para controlar a tensão dos agitadores magnéticos de acordo com um estudo anterior do nosso grupo (MAFRA et al., 2018). As extrações foram realizadas em frascos de capacidade de 40 mL com tampa.

5.1.2 Amostra aquosa

A amostra de água do rio foi coletada no rio Cubatão (-27.68939605 / -48.73518439) na região metropolitana de Florianópolis, Santa Catarina, Brasil, utilizando um coletor piezométrico. A amostra foi mantida em refrigeração e em seguida analisada.

5.1.3 Instrumentação e condições cromatográficas

Um cromatógrafo a gás Shimadzu GC-MS QP2010 Plus, equipado com um detector de espectrômetro de massa e *split/splitless* (Kyoto, Japão), com uma coluna capilar Zebron ZB-5MS (30 m \times 0,25 mm \times 0,25 μ m; Torrance, CA, EUA) foi utilizado para a análise cromatográfica. A injeção de líquido foi realizada no modo sem divisor, com a temperatura do injetor ajustada em 250 °C. A temperatura inicial do forno foi de 40 °C (5 min), que aumentou a 20 °C min⁻¹ até 80 °C, e depois aumentou à taxa de 6 °C min⁻¹ a 300 °C (10 min). Hélio ultrapuro 5.0 (99,999%) foi usado como gás de arraste a uma vazão de 1,0 mL min⁻¹. Para o GC-MS, as temperaturas da linha de transferência e da fonte de íons foram fixadas em 280 e 250 °C, respectivamente. O espectrômetro de massa foi operado no modo de ionização por impacto de elétrons (EI) a 70 eV. Os analitos foram determinados em modo de monitoramento com íons selecionados (SIM) e as razões de massa/carga (*m/z*) são apresentados no Apêndice C. Os valores *m/z* em negrito foram utilizados para a determinação quantitativa dos analitos.

5.1.4 Preparação e caracterização do material sorvente

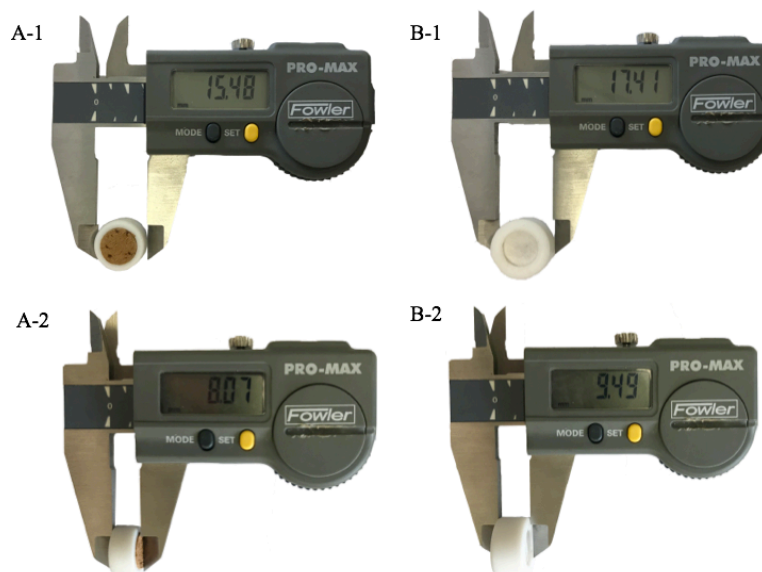
As rolhas de cortiça foram condicionadas em um béquer contendo água ultrapura durante 2 h sob agitação ultrassônica. Este procedimento foi repetido até se obter uma água incolor, indicando que as rolhas de cortiça estavam limpas. Em seguida, as rolhas foram deixadas em estufa a 110 °C por 12 h. Após a limpeza da rolha de cortiça foi utilizado uma lâmina para corta-la na forma de folhas com aproximadamente a mesma espessura (2 mm). Um vazador com diâmetro de 10 mm foi usado para fragmentar o material em discos. Posteriormente, os discos foram mantidos em banho ultrassônico em ACN por 30 min, seguido por 10 min em água. Ao final do processo, com o material já seco, todas as lâminas circulares de cortiça foram pesadas, garantindo a mesma quantidade de sorvente em todas as extrações (0,03 g).

A caracterização da cortiça laminar foi realizada utilizando um espectrômetro infravermelho com transformada de Fourier de reflectância total ABB FTLA 2000 (ATR-FTIR) (Zurique, Suíça). Um analisador Perkin-Elmer 2400 CHNS/O foi utilizado para realizar a análise elementar. A análise termogravimétrica foi realizada num analisador termogravimétrico Shimadzu modelo TGA-50 (Tóquio, Japão) sob taxa de aquecimento de 10 °C min⁻¹ a 600 °C, atmosfera de N₂ e de 50 mL min⁻¹ numa célula de platina. Um microscópio eletrônico de varredura Hitachi TM 3030 (Tarrytown, NY, EUA) foi usado para avaliar a morfologia do material.

5.1.5 Técnica RDSE modificada contendo a cortiça laminar

A RDSE modificada proposta neste estudo consiste no disco rotativo contendo a lâmina circular laminar (10 mm de diâmetro) colocada dentro da cavidade do disco. Como a lâmina de cortiça e a cavidade do disco possuem o mesmo diâmetro, não foi necessário o uso de qualquer tipo de cola para aderir a cortiça ao aparato. Também não foi necessário utilizar a capa de Teflon, que faz parte do aparato da técnica original. Essa nova configuração, que é reduzida em tamanho em aproximadamente 15%, permitiu que menores quantidades de solvente fossem necessárias para etapa de dessorção em comparação com o aparelho RDSE tradicional, além da possibilidade da utilização de maiores quantidades de fase extratora. Agitadores magnéticos conectados a um regulador de tensão permitiram extrações simultâneas para aumentar o rendimento do método. Um esquema que compara a nova configuração usada neste estudo e a configuração tradicional é mostrado na Figura 30.

Figura 30 - Comparação entre RDSE modificada e tradicional: A-1 (circunferência) e A-2 (altura) para o disco modificado e B-1 (circunferência) e B-2 (altura) para o disco tradicional.



Fonte: Autoria Própria

Um estudo comparativo foi realizado entre a técnica tradicional, com cortiça em pó, e a técnica modificada, com a cortiça em lâmina.

Condições iniciais foram fixadas: na extração, 35 mL de amostra, sem adição de tampão, durante 45 minutos à temperatura ambiente e na máxima velocidade de agitação fornecida pelo agitador magnético. Para a extração em lâmina, 0,03 g de cortiça foi utilizada enquanto em pó 0,005 g (máxima capacidade do dispositivo). Para a dessorção, metanol foi utilizado como solvente durante 20 minutos de dessorção à temperatura ambiente. Para a técnica utilizando cortiça em pó, 3 mL foram utilizados de solvente de dessorção enquanto apenas 1 mL foi requerido para a utilização da fase em lâmina.

5.1.6 Otimização do Procedimento RDSE modificado

Os parâmetros experimentais que podem influenciar a extração e a dessorção líquida dos compostos foram avaliados como descrito abaixo. Ao longo da otimização, as médias geométricas das áreas de pico normalizadas correspondentes aos compostos estudados foram utilizadas para plotar os gráficos.

Procedimentos de dessorção líquida: solventes de dessorção foram investigados com base em um planejamento simplex-centróide, contendo 12 experimentos (incluindo

uma triplicata no ponto central), usando metanol (MeOH), acetato de etila (AcOEt) e acetona (AC) para obter uma superfície triangular (Tabela 15). Em seguida, investigou-se o tempo e o volume de dessorção necessários para a dessorção líquida, aplicando-se o planejamento Doehlert, avaliando o tempo (10 a 30 min) e o volume de solvente (1 a 3 mL) (Tabela 16). Os dados experimentais dos dois planejamentos foram processados utilizando um programa computacional *Statistica 8.0*.

Tabela 15 - Planejamento Simplex-Centroide para a escolha do solvente(s) de dessorção líquida

Planejamento Experimental – Solvente de Dessorção						
Experimento	Valores codificados			Valores reais (mL)		
	MeOH	AcOEt	AC	MeOH	AcOEt	AC
1	1	0	0	1,0	0	0
2	0	1	0	0	1,0	0
3	0	0	1	0	0	1,0
4	0,5	0,5	0	0,5	0,5	0
5	0,5	0	0,5	0,5	0	0,5
6	0	0,5	0,5	0	0,5	0,5
7	0,666	0,166	0,166	0,5	0,25	0,25
8	0,166	0,666	0,166	0,25	0,5	0,25
9	0,166	0,166	0,666	0,25	0,25	0,5
10	0,333	0,333	0,333	0,333	0,333	0,333
11	0,333	0,333	0,333	0,333	0,333	0,333
12	0,333	0,333	0,333	0,333	0,333	0,333

Fonte: Autoria Própria

Tabela 16 - Planejamento Doehlert para tempo e temperatura de dessorção

Planejamento Experimental – Solvente de Dessorção				
Experimento	Valores codificados		Valores reais	
	Volume	Tempo	Volume (mL)	Tempo (min)
1	0	-1	2	10
2	-0,866	-0,5	1	15
3	0,866	-0,5	3	15
4 (ponto central)	0	0	2	20
5 (ponto central)	0	0	2	20
6 (ponto central)	0	0	2	20
7	-0,866	0,5	1	25
8	0,866	0,5	3	25
9	0	1	2	30

Fonte: Autoria Própria

Procedimentos de extração: a significância dos parâmetros que podem influenciar a eficiência de extração foi avaliada usando um planejamento fatorial completo incluindo tempo de extração (30 e 60 min), pH da amostra (4 e 8) e força iônica (0% e 30% m/v de NaCl) (Tabela 17). Em seguida, o tempo de extração foi estudado em um planejamento univariado considerando 10, 20 e 30 min.

Tabela 17 - Planejamento Fatorial Completo para o estudo da extração.

Exp	Valores codificados			Valores reais		
	Tempo	pH	Sal	Tempo (min)	pH	Sal (%)
1	-1	-1	-1	30	4	0
2	1	-1	-1	60	4	0
3	-1	1	-1	30	8	0
4	1	1	-1	60	8	0
5	-1	-1	1	30	4	30
6	1	-1	1	60	4	30
7	-1	1	1	30	8	30
8	1	1	1	60	8	30

Fonte: Autoria Própria

5.1.7 Procedimento de alta frequência analítica

Primeiramente, todas as fases em lâmina utilizadas neste estudo foram pesadas ($m = 0,030 \pm 0,003$ g) e condicionadas com ACN por 10 min. Em seguida, o disco contendo o material sorvente foi colocado dentro de um frasco contendo 35 mL de água ultra pura fortificada com os analitos. Seis agitadores magnéticos ligados a um regulador de tensão foram usados para prosseguir as extrações ao mesmo tempo (Figura 31). Após o período de extração o disco foi removido e colocado em um béquer com 1 mL de solvente de dessorção e levado à agitação. Sem a necessidade de evaporação e reconstituição, o extrato resultante foi mantido em um frasco até a inserção posterior no equipamento analítico. Após a dessorção, o disco pode ser reutilizado exigindo apenas uma etapa de limpeza, aplicando uma agitação por 10 min em 1 mL do solvente de dessorção.

Figura 31 - Esquema do acoplamento dos agitadores ao regulador de tensão.



Fonte: (MAFRA, 2016)

5.1.8 Figuras analíticas de mérito e aplicação do método desenvolvido

Figuras de mérito como coeficiente de determinação linear, faixa linear, limite de detecção, limite de quantificação, exatidão e precisão foram determinadas utilizando as condições otimizadas de extração. As curvas de calibração, considerando cinco níveis de concentração ($n = 3$), foram obtidas pela plotagem da área do pico *versus* a concentração de analitos adicionados diretamente na amostra em uma faixa de $6,25\text{-}100 \mu\text{g L}^{-1}$ para todos os analitos com exceção do EHPABA e do MBC, que foram adicionados no intervalo de $2,0\text{-}32 \mu\text{g L}^{-1}$. Os coeficientes de determinação foram calculados com base nas curvas de calibração e os limites de detecção (LOD) baseado

na relação sinal ruído de 3 ($S/N=3$) enquanto os limites de quantificação (LOQ) foram baseados na relação sinal ruído de 10 ($s/n=10$). A precisão do método foi calculada com base RSD. A exatidão (recuperações relativas, $n = 3$) e a precisão (intra-dia, $n = 3$ e inter-dia, $n = 9$) do método foram avaliadas realizando-se extrações em amostra de água enriquecida em três diferentes concentrações (2,0, 4,0 e 8,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ para o EHPABA e MBC e 6,25, 12,5 e 25,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ para os outros analitos).

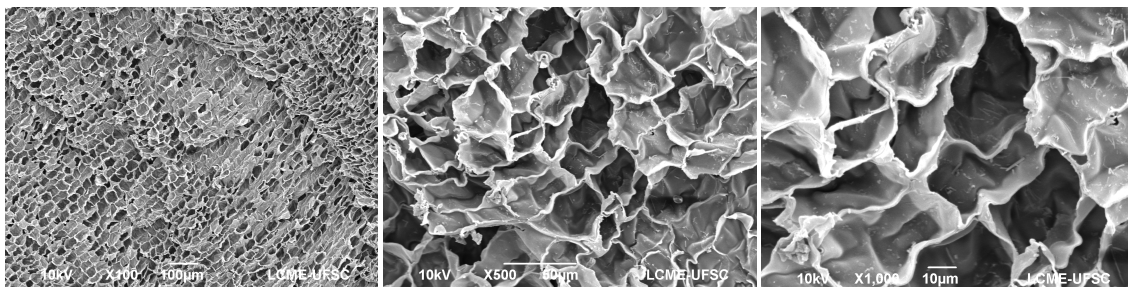
5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.2.1 Caracterização do material sorvente

A análise elementar mostra uma composição de cortiça de 61,76% de carbono, 8,30% de hidrogênio, 0,75% de nitrogênio e 29,19% de oxigênio. Estes valores são compatíveis com os relatados na literatura (PINTOR et al., 2013). A isoterma de adsorção de N_2 foi determinada para avaliar a área superficial específica e porosidade nos discos de cortiça. Vale ressaltar que a análise foi realizada com um disco inteiro. Isotermas do disco de cortiça são do Tipo III, onde não é inidentificável nenhuma formação de monocamada por conta das fracas interações adsorvente-adsorbato, comportamento característico de sólidos não porosos ou macroporosos, de acordo com a classificação de Brunauer (THOMMES et al., 2015). A cortiça em forma de disco possui uma área específica de 2,1 $\text{m}^2 \text{g}^{-1}$, valor similar, menor que 2 $\text{m}^2 \text{g}^{-1}$ usando N_2 como adsorbato, foi relatado para cortiça em pó com tamanho de partícula entre 0,2-0,3 mm, bem como ausência de poros (PINTOR et al., 2013). Outro estudo alcançou uma área superficial específica de 8,2 $\text{m}^2 \text{g}^{-1}$ quando foi adotado um tamanho de partícula entre 400 μm e 1 mm do pó de cortiça (NOVAIS et al., 2018).

O disco de cortiça foi cortado na seção transversal, seção esta caracterizada pela estrutura do tipo parede de tijolos, com alinhamento em filas paralelas entre as células, como pode ser observado nas micrografias apresentadas na Figura 32 (FERREIRA et al., 2016)(MIRANDA; GOMINHO; PEREIRA, 2013). As células de cortiça constituem os macroporos e, como pode ser evidenciado na Figura 32 C, esses macroporos possuem seus interiores fechados. Essa constatação corrobora com o resultado da baixa área superficial e a isoterma do tipo III. Portanto a cortiça apresenta somente macroporos externos, que em nada contribuem.

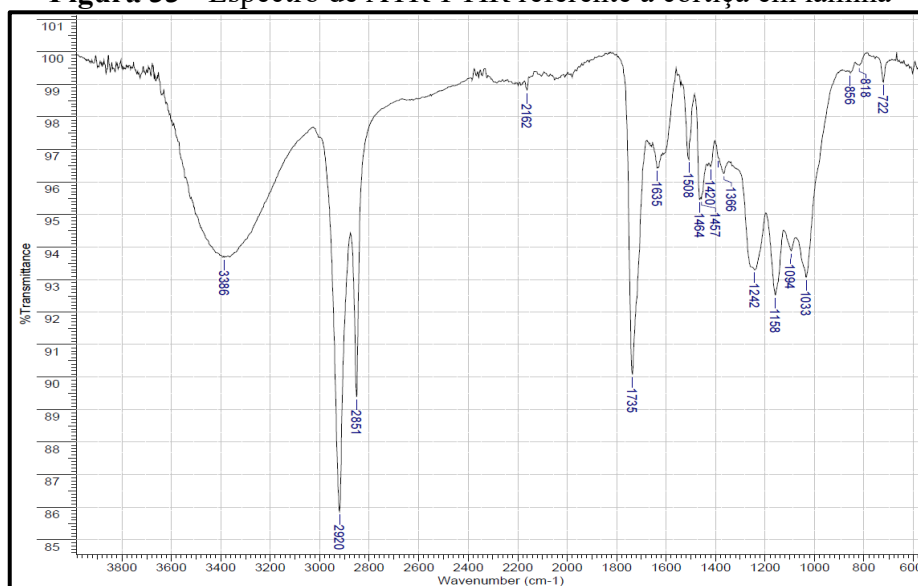
Figura 32 - Microscopia Eletrônica de Varredura da cortiça em lâmina: (A) magnificação de 100X, (B) magnificação de 500 e (C) magnificação de 1000X.



Fonte: Autoria Própria

Além disso, as análises de infravermelho e termogravimétrica foram realizadas. As frequências de absorção dos grupos funcionais dos constituintes da cortiça podem ser observadas na Figura 33.

Figura 33 - Espectro de ATR-FTIR referente a cortiça em lâmina



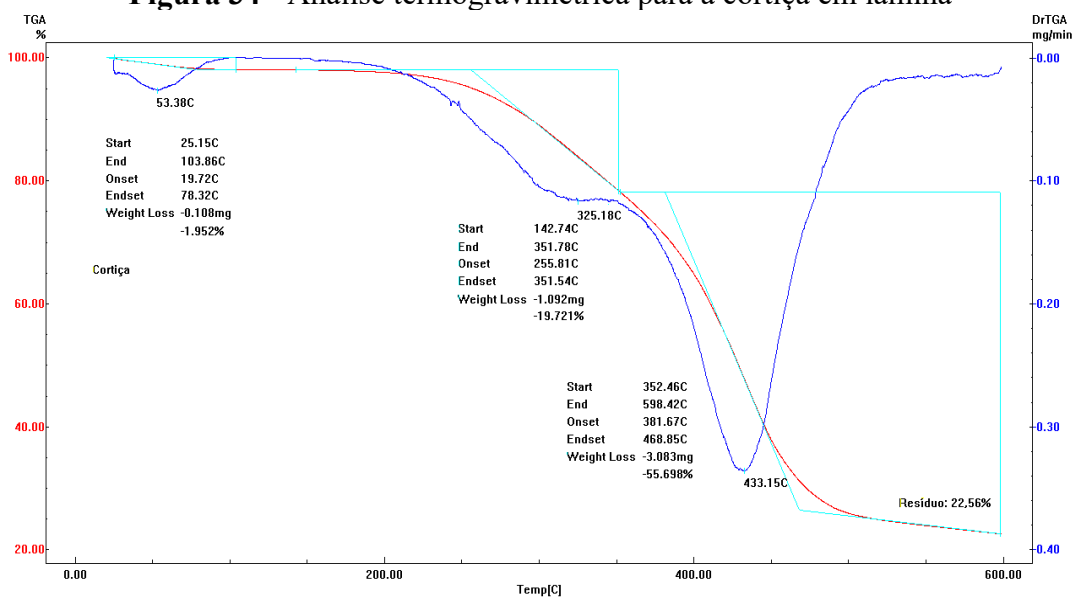
Fonte: Autoria Própria

*Tabela referente as espectro encontra-se no Apêndice B.

A análise termogravimétrica da cortiça utilizada neste trabalho foi realizada com uma taxa de aquecimento de 10 °C/min até 600 °C, sob atmosfera de N₂ com vazão de 50 mL min⁻¹ em célula de platina (Figura 34). A cortiça sofreu uma degradação térmica em três etapas. O primeiro pico em 53,38 °C se refere a evaporação de umidade e desidratação do disco de cortiça. O segundo evento apresenta um suave declive das curvas, tendo seu início em 255,81 °C e seu término em 351,54 °C com perda de 19,72 % de sua massa. O terceiro evento ocorre com grande declive das curvas, iniciando em

381,67 °C e termina em 468,85 °C, tendo seu auge em 433,15 °C e correspondendo a uma perda de massa de 55,70%. O resíduo resultante da análise termogravimétrica corresponde a 22,56% da massa inicial. A grande perda de massa evidenciada no terceiro evento corrobora com publicações que evidenciaram a degradação térmica de polissacarídeos, como hemicelulose e celulose, e a degradação parcial da suberina e lignina, sendo essa última a responsável pela resistência ao calor (PINTOR et al., 2013)(ŞEN et al., 2014).

Figura 34 - Análise termogravimétrica para a cortiça em lâmina



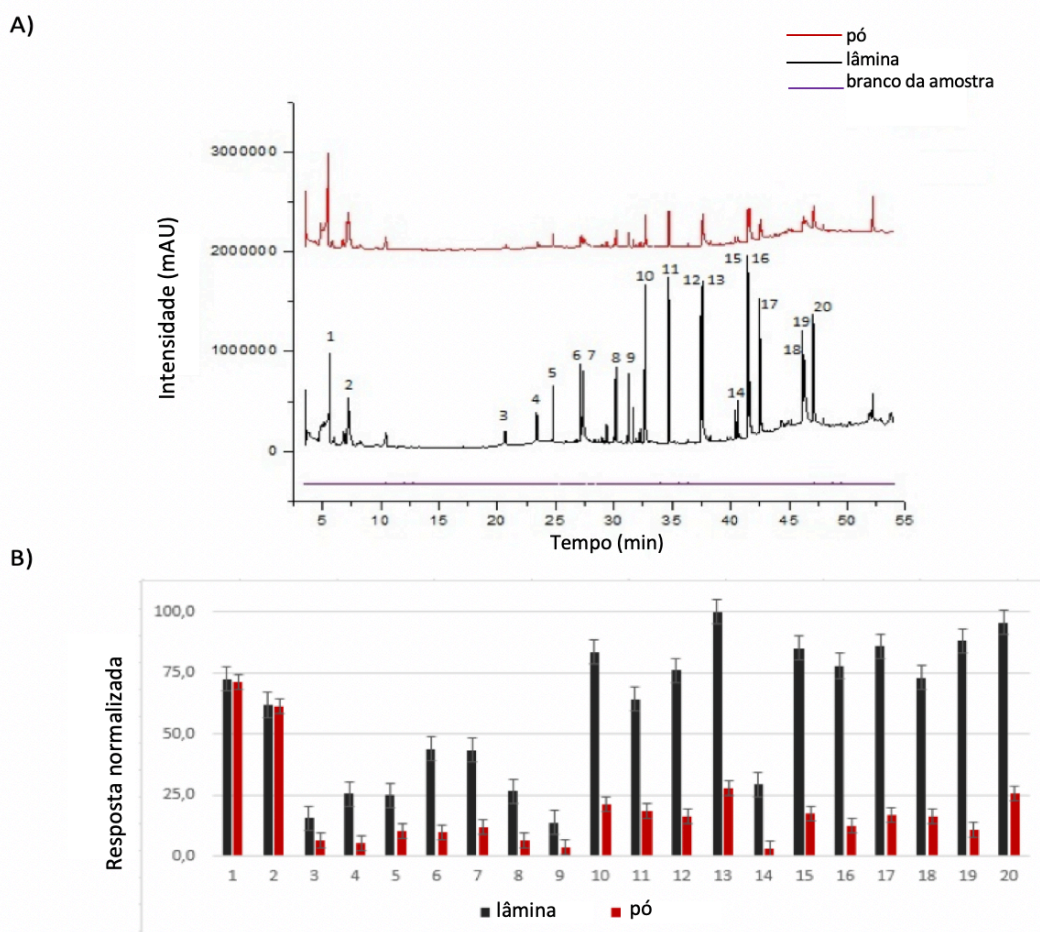
Fonte: Autoria Própria

*Tabela referente a análise termogravimétrica encontra-se no Apêndice B.

5.2.2 Comparação da eficiência de extração utilizando RDSE e RDSE modificada

Primeiramente, a eficiência de extração do material biossorvente foi avaliada de duas maneiras: laminar e pó de cortiça. As extrações foram realizadas para avaliar qual o aparato utilizando cortiça apresentaria melhores áreas de pico cromatográfico dos analitos. A Figura 35 mostra os cromatogramas dos dois formatos de cortiça e também um gráfico de barras que compara a eficiência de extração do pó e da cortiça laminar, respectivamente.

Figura 35 - A) Cromatogramas utilizando a cortiça laminar (preto) em comparação com o pó de cortiça (vermelho). B) Gráfico de barras obtido para a extração dos analitos nos formatos laminar e em pó. Condições: 35 mL de água purificada ultrapura com 200 de $\mu\text{g L}^{-1}$ dos analitos, pH = 6,0, 45 min de tempo de extração e dessorção líquida em 1 mL de metanol durante 20 min.



Fonte: Autoria Própria

De acordo com a Figura 35 é possível observar que o uso da cortiça laminar como fase de extração apresentou resultados promissores para a continuação do trabalho. O uso de cortiça laminar aumenta a quantidade de fase extratora em pelo menos 6 vezes, permitindo um aumento significativo no sinal analítico, sem requerer aparelhagem específica para a etapa de evaporação.

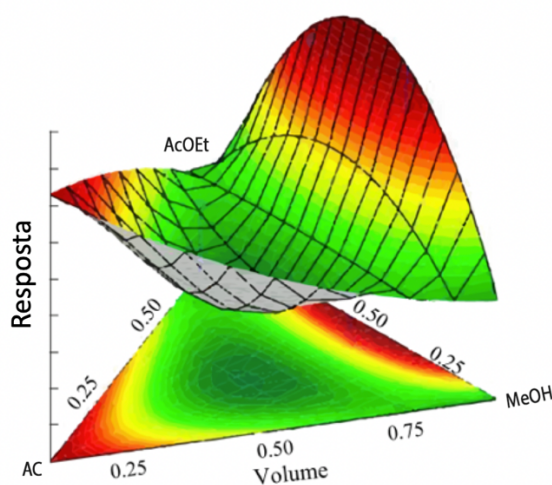
5.2.3 Otimização das condições da RDSE modificada

5.2.3.1 Otimização da dessorção líquida

A dessorção é um passo muito importante que precisa ser otimizado para se obter uma boa eficiência do método e evitar possíveis efeitos de memória. Portanto, a natureza do solvente de dessorção, o volume necessário e o tempo devem ser cuidadosamente otimizados.

Em primeiro lugar, o melhor solvente ou mistura de solventes foi avaliado usando um planejamento simplex-centróide. A escolha dos três solventes avaliados foi associada à polaridade dos compostos estudados e também à compatibilidade com o sistema cromatográfico. A Figura 36 mostra a superfície de resposta das médias geométricas dos analitos como uma condição de compromisso obtida pela otimização do solvente de dessorção.

Figura 36 - Superfície simplex-centróide para otimização de solvente de dessorção. Condições: 35 mL de água purificada ultrapura com 200 de L⁻¹ dos analitos, pH = 6,0, 45 min do tempo de extração e dessorção lida em 1 mL durante 20 min.



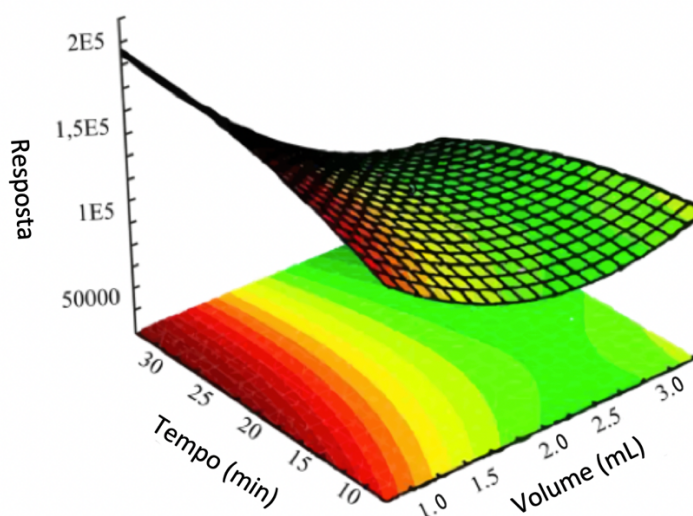
Fonte: Autoria Própria

Os três solventes foram selecionados de acordo com suas polaridades (log P: metanol -0,72, acetona -0,16 e acetato de etila 0,71 – valores obtidos com a calculadora de log P “ACD/LogP”). A mistura de 50:50 (v/v) de metanol e acetato de etila exibe uma polaridade semelhante à da acetona pura, justificando as duas regiões com excelentes eficiências de extração indicadas na Figura 36. Como as extrações foram ainda melhores usando a mistura de metanol e acetato de etila e devido a acetona ser o solvente mais volátil dos três, dificultado a preparo de amostra, o solvente de

dessorção selecionado para a continuação dos estudos foi 50% (v/v) de metanol e acetato de etila.

Após a otimização para escolha do solvente, o tempo e volume de dessorção foram avaliados usando um planejamento Doehlert. A menor quantidade de solvente deve ser usada para evitar a diluição excessiva dos analitos. Assim, 1 mL de uma mistura de 50:50 (v/v) AcOEt:MeOH foi selecionado, uma vez que forneceu a menor diluição dos analitos. Como os analitos têm uma boa afinidade pelo solvente selecionado, tempos baixos de dessorção foram suficientes para removê-los da fase de extração (Figura 37). Assim, 20 min foram utilizados, garantindo adequada eficiência. Dessa forma, os melhores resultados foram obtidos com 20 min de dessorção e 1 mL de solvente.

Figura 37 - Superfície Doehlert para determinação do volume ideal de solvente e tempo de dessorção (R: 0,9787). Condições: 35 mL de água ultrapura enriquecida com 200 µg L-1 dos analitos, pH = 6,0, 45 min do tempo de extração e dessorção de líquido em 1 mL de MeOH: ETAC (50:50 v / v) por 20 min.



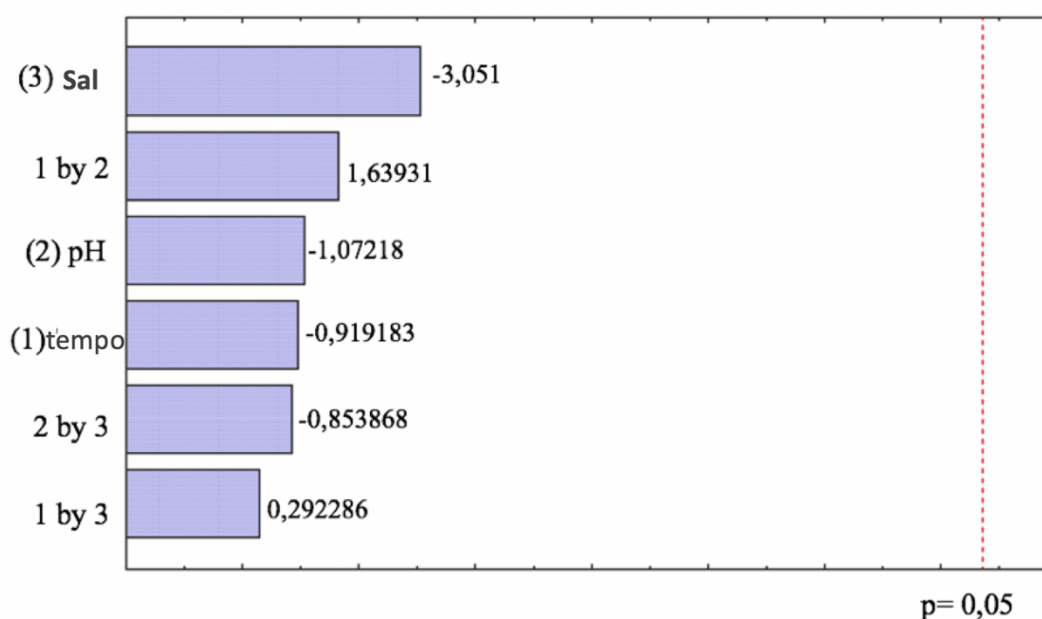
Fonte: Autoria Própria

Além disso, para avaliar o efeito memória, após uma etapa de limpeza, uma segunda dessorção foi realizada e injetada no equipamento cromatográfico. Os cromatogramas não apresentaram picos de analitos correspondentes, indicando que o processo de dessorção foi eficiente.

5.2.3.2 Otimização da Extração

Para avaliar as variáveis que podem influenciar a eficiência da extração foi realizado um planejamento fatorial completo estudando o pH da amostra, tempo de extração e adição de sal, totalizando 8 experimentos. O gráfico de Pareto obtido pode ser visto na Figura 38.

Figura 38 - Planejamento fatorial completo (2^3). Condições: 35 mL de água purificada ultrapura com $200 \mu\text{g L}^{-1}$ dos analitos, dessorção líquida em 1 mL de MeOH: ETAC (50:50 v / v) por 20 min.



Fonte: Autoria Própria

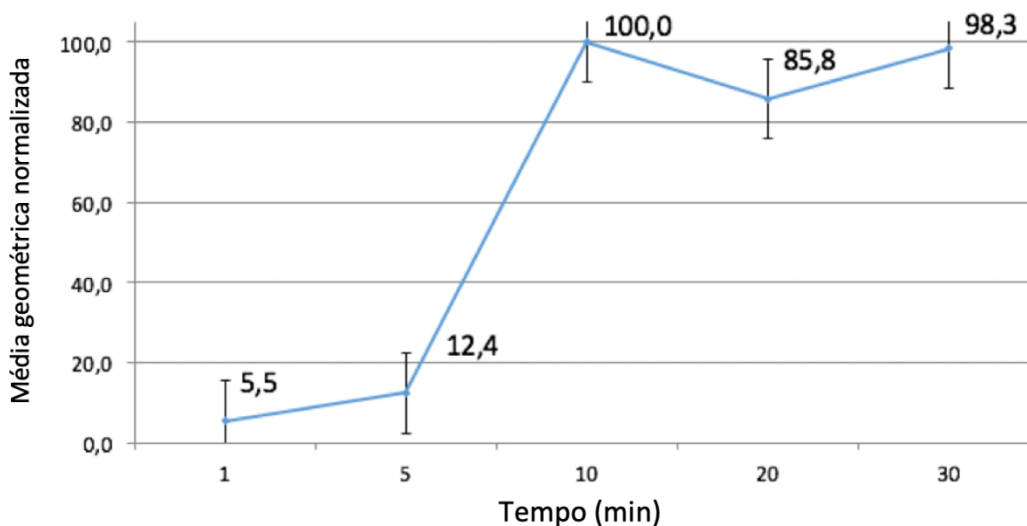
O pH das amostras afeta a dissociação dos analitos, bem como a eficiência de extração. Como os compostos alvo não ionizam na faixa de pH usual (exceto para EHPABA, cujo pKa é próximo a 2,9 (DIXON; JURIS, 1993), este parâmetro pode ser avaliado de acordo com o pH esperado para águas residuais (valores variando de 4 a 8) porque, neste intervalo, todos os 20 analitos estão em sua forma neutra. Para EHPABA, valores de pH do meio maiores que 4 já garantem a espécie neutra, garantindo extrações eficientes acima desse pH. Como pode ser visto na Figura 38, o gráfico de Pareto mostrou que para esta faixa de pH não há diferença significativa na eficiência de extração, portanto nenhum ajuste de pH foi necessário para o desenvolvimento desta metodologia.

O uso de sal aumenta a força iônica da amostra, levando ao efeito *salting out*, o que torna mais fácil para os analitos semi-polares e polares migrarem da amostra para o sorvente. Em contraste, pode dificultar a difusão dos analitos pela amostra. Os estudos de adição de sal não foram significativos, a condição otimizada para essa variável foi escolhida sem adição de sal.

De acordo com o gráfico de Pareto, é possível observar também que o tempo selecionado como domínio para o estudo do parâmetro excedeu os valores ideais para a extração. Isso ocorre porque, após atingir o equilíbrio, tempos extras não melhoram significativamente o sinal dos analitos. Desta forma, uma otimização aprimorada do tempo é requerida.

Dessa forma, uma otimização univariada do tempo foi realizada para avaliar diferenças significativas nos tempos de extração inferiores a 30 min. O resultado desta otimização é mostrado na Figura 39 sendo selecionado 10 min como tempo de extração ótimo. Após esse período, um efeito platô é observado, não exigindo tempos de extração mais longos.

Figura 39 - Estudo univariado para o tempo de extração para avaliação do parâmetro em tempos menores que 30 minutos.



Fonte: Autoria Própria

O procedimento RDSE otimizado consiste de 35 mL de amostra e tempo de extração sob agitação constante por 10 min. Em seguida, a dessorção líquida foi otimizada em um béquer contendo 1 mL de MEOH:AcOEt (50:50 v/v) por 20 min.

5.2.3.3 Parâmetros analíticos de mérito

As figuras analíticas de mérito obtidas neste estudo são mostradas na Tabela 18. O coeficiente de determinação linear (R^2) foi maior que 0,9915 indicando bom ajuste linear. Os valores de LOD e LOQ foram obtidos sem a etapa de evaporação, confirmando a possibilidade de utilização da metodologia proposta para a quantificação de analitos de acordo com a Legislação Brasileira vigente. Além disso, resultados satisfatórios para a precisão do método foram alcançados. A precisão inter e intra-dia apresentou valores de RSD menores que 19,5% e 20,0%, respectivamente (Tabela 19)

Tabela 18 - Figuras analíticas de mérito para o método proposto.

Analito	Faixa Linear ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Equação da reta	R^2	LOD^a ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LOQ^b ($\mu\text{g L}^{-1}$)
Etilbenzeno	6,25-100	$y = 380,23x - 1379,8$	0,9975	0,60	2,02
<i>o</i>-Xileno	6,25-100	$y = 299,37x - 484,96$	0,9923	0,37	1,22
Acenaftileno	6,25-100	$y = 1011,9x - 2366,9$	0,9973	0,24	0,81
Fluoreno	6,25-100	$y = 849,82x - 33,042$	0,9929	0,38	1,28
Trifluralina	6,25-100	$y = 141,29x + 30,833$	0,9992	1,44	4,81
Fenantreno	6,25-100	$y = 670,7x - 2192,3$	0,9939	0,29	0,96
Antraceno	6,25-100	$y = 1972x - 8547,8$	0,9961	0,15	0,52
Pendimetalina	6,25-100	$y = 89,245x - 33,042$	0,9993	1,50	5,00
EHPABA	2,00-32,0	$y = 91,533x + 204,29$	0,9929	0,51	1,72
Pireno	6,25-100	$y = 2957,4x - 2150,3$	0,9984	0,09	0,29
MBC	2,00-32,0	$y = 1592,6x - 998,54$	0,9992	0,14	0,46
Benzo[a]antraceno	6,25-100	$y = 604,31x + 6301,1$	0,9996	0,09	0,31
Criseno	6,25-100	$y = 3392,4x - 17821$	0,9951	0,12	0,39
Permetrina	6,25-100	$y = 156,16x - 747,17$	0,9915	1,26	4,19
Benz(e)acefantrileno	6,25-100	$y = 714,01x + 3869,8$	0,9954	0,16	0,55
Benzo(k)fluoranteno	6,25-100	$y = 1870,4x - 2198$	0,9919	0,11	0,37
Benzo(a)pireno	6,25-100	$y = 2808,4x - 7574,5$	0,9917	0,13	0,44
Dibenzo(a,h)antraceno	6,25-100	$y = 1472,8x - 7797,7$	0,9953	0,18	0,62

Continuação Tabela 18

Analito	Faixa Linear ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Equação da reta	R²	LOD^a ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LOQ^b ($\mu\text{g L}^{-1}$)
Indeno[1,2,3-cd]pireno	6,25-100	$y = 200,27x - 567,19$	0,9940	0,80	2,68
Benzo[ghi]perileno	6,25-100	$y = 1464,4x - 4854,8$	0,9937	0,15	0,49

Fonte: Autoria Própria

^a LOQ foi calculado baseado na relação sinal ruído de 10 ($s/n=10$).

^b LOD foi calculado baseado na relação sinal ruído de 3 ($s/n=3$).

A precisão do método, usando três diferentes concentrações de analito, foi determinada com base nas recuperações relativas. Como também mostrado na Tabela 19, as recuperações relativas variaram de 80,1 a 119,8%. Quanto a amostra, nenhum dos analitos foi observado no cromatograma.

Tabela 19 - Recuperação relativa e precisão (intra e inter-dia) para os analitos estudados.

Analito	Etilbenzeno			<i>o</i>-Xileno			Acenaftileno			Fluoreno		
Ad*	6,25	12,5	25	6,25	12,5	25	6,25	12,5	25	6,25	12,5	25
Rec (%)	109,1	103,7	93,9	113,7	108,1	80,1	100,2	102,0	114,9	83,6	85,6	99,2
Intra-dia (%) (n=3)	1,23	1,82	0,52	10,75	3,46	10,70	3,09	2,04	4,90	0,57	3,11	7,33
Inter-dia (%) (n=9)	7,22	9,58	3,78	7,64	3,96	7,73	8,60	15,64	19,88	5,27	11,19	5,18
Analito	Trifluralina			Fenantreno			Antraceno			Pendimetalina		
Ad*	6,25	12,5	25	6,25	12,5	25	6,25	12,5	25	6,25	12,5	25
Rec (%)	103,9	106,3	98,8	104,0	96,2	81,9	104,0	96,2	81,9	90,5	119,8	113,0
Intra-dia (%) (n=3)	0,30	1,25	2,14	5,05	19,40	3,91	5,05	19,40	3,91	9,59	3,84	1,66
Inter-dia (%) (n=9)	19,91	1,06	13,75	18,93	17,56	19,04	18,93	17,56	19,04	7,43	5,06	4,62

Continuação Tabela 19

Analito	EHPABA			Pireno			MBC			Benzo[a]antraceno		
Ad*	6,25	12,5	25	6,25	12,5	25	6,25	12,5	25	6,25	12,5	25
Rec (%)	90,5	119,8	113,0	89,4	96,5	95,5	80,4	100,0	107,3	109,1	101,6	92,7
Intra-dia (%) (n=3)	9,59	3,84	1,66	2,06	19,22	2,37	4,57	18,23	18,17	7,92	15,24	2,34
Inter-dia (%) (n=9)	7,43	5,06	4,62	14,11	18,53	17,22	5,24	12,64	12,84	5,64	15,24	8,94
Analito	Criseno			Permetrina			Benz(e)acefenantrileno			Benzo(k)fluoranteno		
Ad*	6,25	12,5	25	6,25	12,5	25	6,25	12,5	25	6,25	12,5	25
Rec (%)	109,9	95,8	89,8	119,8	114,2	84,5	84,6	115,6	111,6	91,3	112,1	83,5
Intra-dia (%) (n=3)	3,90	14,17	9,92	15,04	3,81	4,60	9,68	15,14	2,72	12,73	2,80	6,56
Inter-dia (%) (n=9)	10,90	10,13	7,54	18,59	2,64	15,02	19,32	5,77	2,07	8,99	13,06	4,62
Analito	Benzo(a)pireno			Dibenzo(a,h)antraceno			Indeno[1,2,3-cd]pireno			Benzo[ghi]perileno		
Ad*	6,25	12,5	25	6,25	12,5	25	6,25	12,5	25	6,25	12,5	25
Rec (%)	87,5	104,8	114,6	114,3	111,1	82,4	110,7	112,6	86,4	116,6	107,5	84,1
Intra-dia (%) (n=3)	19,65	9,50	16,77	16,13	11,67	0,27	16,56	3,36	13,92	13,25	16,92	2,25
Inter-dia (%) (n=9)	16,17	7,64	11,78	18,30	10,92	2,02	10,85	2,51	10,72	15,16	16,33	8,23

Fonte: Autoria Própria *concentração de analito fortificado na amostra.

Finalmente, o método proposto foi comparado com outros métodos previamente relatados na literatura para a determinação dos compostos. Como mostra a Tabela 20, é possível observar que o método proposto apresenta excelentes resultados utilizando a cortiça, um bioissorvente renovável e de baixo custo. Métodos com baixos limites de quantificação requerem etapa de secagem ou tempo de preparação de amostra alto. O método desenvolvido possui limites aceitáveis de quantificação considerando a rapidez da preparação da amostra. Adicionando uma etapa de secagem, melhores limites ainda poderiam ser explorados. Neste estudo, o rendimento da análise para esta metodologia foi substancialmente aumentado devido ao acoplamento de seis agitadores magnéticos, o que permitiu um tempo total de extração de apenas 5 min por tempo de análise da amostra quando a capacidade máxima do sistema é utilizada.

Tabela 20 - Comparação das características analíticas para o RDSE e outras abordagens de extração sorvente para os analitos com características similares e mesma matriz. Técnica de extração: SBSE: Extração sortiva em barra de agitação; SBS μ E: microextração sortiva-dispersiva em barra de agitação.

Técnica	Instrumentação	Analitos	Fase extratora	LOQ ($\geq \mu\text{g L}^{-1}$)	Etapa de evaporação	Tempo total de preparo por amostra (min)	Referência
RDSE	GC-MS	parabenos	OASIS HLB	0,15	Sim	80	(BECERRA-HERRERA et al., 2018)
RDSE	UPLC-MS/MS	pesticidas	OASIS HLB	0,05	Sim	140	(DONATO et al., 2017)
RDSE	GC-ECD	PCBs	MMT – IL	0,0065	Sim	40	(FISCAL-LADINO et al., 2017)
RDSE	LC-UV	Drogas ácidas	C18 modificada	72,4	Sim	26	(MANZO; MIRÓ; RICHTER, 2014)
RDSE	GC-MS	drogas	OASIS HLB	0,007	Sim	110	(MANZO et al., 2014)
RDSE	GC-MS	diclofenaco e ácido mefenâmico	MIP	0,20	Sim	130	(MANZO et al., 2015)
RDSE	UHPLC-UESI-TOF- MS	drogas	OASIS HLB	0,009	Sim	70	(BECERRA-HERRERA; HONDA; RICHTER, 2015)

Continuação Tabela 20

Técnica	Instrumentação	Analitos	Fase extratora	LOQ ($\geq \mu\text{g L}^{-1}$)	Etapa de evaporação	Tempo total de preparo por amostra (min)	Referência
RDSE	GC-MS	pesticidas	PDMS	1,61	Sim	210	(GIORDANO; RICHTER; AHUMADA, 2011)
SBSDuE	GC-MS	MBC	MNPs	0,078	Não	35	(CHISVERT; BENEDÉ; SALVADOR, 2018)
SBSE	HPLC-FLD	PAH	Sand	0,79	Não	65	(KRÜGER et al., 2011)
RDSE	GC-MS	pesticidas MBC Indeno[1,2,3- cd]pireno PAH (outros)	Cortiça laminar	< 5,0 0,47 2,58 <1,28	Não	5	Esta metodologia

Fonte: Autoria Própria

5.4 CONCLUSÕES PARCIAIS

A metodologia de alta frequência analítica desenvolvida com o uso de uma modificação de procedimento RDSE laminar em cortiça foi otimizada com sucesso, exibindo um desempenho analítico muito satisfatório apresentando melhores resultados do que a técnica clássica usando sorvente em pó. A nova configuração da técnica é simples de usar, reutilizável e requer pequenas quantidades de solvente orgânico, contribuindo para o desenvolvimento de uma metodologia verde. Além disso, a otimização do método permitiu a extração de diferentes micropoluentes, sendo possível explorar a técnica modificada para a aplicação em diferentes amostras. A metodologia proposta apresenta resultados que a torna útil para análise de águas de acordo com a Legislação Brasileira vigente, mesmo sem a etapa de evaporação. No entanto, para melhorar o LOQ e o LOD, uma etapa de secagem pode ser adicionada ainda mantendo um alto rendimento.

6 EXTRAÇÃO EM SORVENTE ROTATIVO: UMA NOVA ABORDAGEM ARTESANAL, VERDE E DE BAIXO CUSTO APLICADA PARA A DETERMINAÇÃO DE PESTICIDAS EM ÁGUA DE LAVAÇÃO DE PRODUTOS DE HORTIFRÚTI POR CROMATOGRAFIA GASOSA E ESPECTROMETRIA DE MASSAS.

Neste último capítulo, um aparato simplificado para extração foi proposto. Utilizando a cortiça como fase extratora, discos foram cortados e barras magnéticas encaixadas na parte inferior para promover a agitação necessária para a extração, apresentando assim, pela primeira vez, a Extração em Sorvente Rotativo (RSE do inglês *rotating sorbent extraction*). Neste estudo, os compostos determinados foram carbofurano, molinato, trifluralina, atrazina e tebuconazol presentes em amostras de água de lavagem de frutas e verduras. Inicialmente, as otimizações dos parâmetros de influência foram realizadas para a nova proposta. Após, os parâmetros analíticos de mérito foram determinados, confirmando assim o bom desempenho do método proposto.

6.2 MATERIAIS E MÉTODOS

6.1.1 Reagentes químicos e materiais

Padrões analíticos de carbofurano, molinato, trifluralina, atrazina e tebuconazol foram adquiridos pela Sigma-Aldrich (Milwaukee, WI, EUA) e usados para preparar soluções estoque únicas de 100 mg L⁻¹ em metanol obtido da Merck (Rio de Janeiro, RJ, Brasil). Após a preparação individual, uma solução de trabalho contendo todos os analitos na concentração de 10 mg L⁻¹ foi obtida em metanol. Cloreto de sódio obtido em Synth (São Paulo, Brasil) foi utilizado para os estudos de efeito de *salting out*. Acetato de etila (AcOEt) e acetonitrila (ACN) grau HPLC foram adquiridos da Merck (Kenilworth, NJ, EUA). Além disso, a água ultrapura (18,2 MΩ cm⁻¹) foi purificada pelo sistema de purificação de água Mega Purity (Billerica, MA, EUA).

Para as extrações, seis agitadores magnéticos (Fisatom, SP, Brasil) foram conectados a um regulador de tensão Variac TDGC2-1 1KVA / 4 AMP (EXA Instruments, SP, Brasil) por régua de energia (NBR 20605, Power Line). Um multímetro digital ET-1002 (Minipa, SP, Brasil) foi usado para controlar a tensão dos agitadores magnéticos de acordo com um estudo anterior do nosso grupo (MAFRA et al., 2018). As extrações foram realizadas em frascos de capacidade de 40 mL com tampa.

6.1.2 Instrumentação e condições cromatográficas

Um cromatógrafo a gás Shimadzu GC-MS QP2010 Plus, equipado com um detector de espectrômetro de massa e injetor *split/splitless* (Kyoto, Japão), com uma coluna capilar Zebron ZB-5MS (30 m × 0,25 mm × 0,25 µm; Torrance, CA, EUA) foi utilizado para a análise cromatográfica. A injeção de líquido foi realizada no modo sem divisor, com a temperatura do injetor ajustada em 250 °C. A temperatura inicial do forno foi de 60 °C (1 min), que aumentou subsequentemente a 25 °C min⁻¹ até 150 °C; em um segundo estágio a rampa de temperatura foi aumentada a 15 °C min⁻¹ até 270 °C (3,5 min). Hélio ultrapuro 5.0 (99,999%) foi usado como gás de transporte a uma vazão de 1,0 mL min⁻¹. Para o GC-MS, as temperaturas da linha de transferência e da fonte de íons foram fixadas em 280 e 250 °C, respectivamente. O espectrômetro de massa foi operado no modo de ionização por impacto de elétrons (EI) a 70 eV. Os analitos foram determinados em modo de monitoramento com íons selecionados (SIM) e as razões de massa/carga (*m/z*) são apresentados no Apêndice C. Os valores *m/z* em negrito foram utilizados para a determinação quantitativa dos analitos.

6.1.3 Preparação do material sorvente e desenvolvimento de uma nova técnica

O procedimento seguiu as etapas iniciais do capítulo 5 – onde foi proposta a modificação da RDSE com sorvente em lâmina. As rolhas de cortiça foram condicionadas em um béquer contendo água ultrapura durante 2 h sob agitação ultrassônica. Este procedimento foi repetido até se obter uma água incolor, indicando que as rolhas de cortiça estavam limpas. Em seguida, as rolhas foram deixadas em estufa a 110 °C por 12 h. Após a limpeza da rolha de cortiça, uma lâmina foi utilizada para cortar as rolhas na forma de discos com aproximadamente a mesma espessura. Um vazador com diâmetro de 15 mm foi usado para fragmentar o material em discos. Um estilete foi utilizado para realizar um corte na parte inferior do disco – para acondicionar a barra magnética. Posteriormente, os discos foram mantidos em banho ultrassônico com clorofórmio por 30 min seguido por 10 min com água. Ao final do processo, com o material já seco, todos os discos circulares de cortiça foram pesados, garantindo a mesma quantidade de sorvente em todas as extrações (0,160 g). A Figura 40 apresenta o aparato.

Figura 40 - Aparato para RSE sendo apresentado em uma foto superior e inferior da fase extratora (na parte inferior a barra de agitação magnética é inserida).



Fonte: Autorial Própria

6.1.4 Otimização do preparo de amostra

Os parâmetros experimentais que podem influenciar a extração e a dessorção líquida dos compostos foram avaliados como descrito abaixo. Ao longo da otimização, as médias geométricas das áreas de pico normalizadas correspondentes aos compostos estudados foram utilizadas para plotar os gráficos. Os dados experimentais de todos os planejamentos das otimizações foram processados utilizando o *Statistica 8.0*.

Procedimentos de dessorção líquida: solventes de dessorção foram investigados com base em um planejamento simplex-centróide, contendo 8 experimentos (incluindo uma duplicata no ponto central), usando metanol (MeOH), acetato de etila (AcOEt) e acetonitrila (ACN) para obter uma superfície triangular (Tabela 21). Em seguida, investigou-se o tempo e o volume de dessorção necessários para a dessorção líquida, aplicando-se o planejamento Doehlert, avaliando o tempo (10 a 30 min) e o volume de solvente (1 a 3 mL) (Tabela 22).

Tabela 21 - Planejamento Simplex-Centroid para a otimização da escolha do solvente de dessorção

Planejamento Experimental – Solvente de Dessorção						
Experimento	Valores codificados			Valores reais (mL)		
	AcOEt	MeOH	ACN	AcOEt	MeOH	ACN
1	0	1	0	0	1	0
2	0,5	0	0,5	0,5	0	0,5
3	0,5	0,5	0	0,5	0,5	0
4	1	0	0	1	0	0
5	0	0	1	0	0	1
6	0	0,5	0,5	0	0,5	0,5
7	0,333	0,333	0,333	0,333	0,333	0,333
8	0,333	0,333	0,333	0,333	0,333	0,333

Fonte: Autoria Própria

Tabela 22 – Planejamento Doehlert para tempo e temperatura de dessorção

Planejamento Experimental – Solvente de Dessorção				
Experimento	Valores codificados		Valores reais	
	Volume	Tempo	Volume (mL)	Tempo (min)
1	0	-1	2	10
2	-0,866	-0,5	1	15
3	0,866	-0,5	3	15
4 (ponto central)	0	0	2	20
5 (ponto central)	0	0	2	20
6 (ponto central)	0	0	2	20
7	-0,866	0,5	1	25
8	0,866	0,5	3	25
9	0	1	2	30

Fonte: Autoria Própria

Procedimentos de extração: Um planejamento Doehlert contendo 9 experimentos (Tabela 23) foi aplicado para otimização, avaliando o tempo (20 a 40 min) e o adição de sal (0 a 30% NaCl m/v). Após a otimização, as médias geométricas

das áreas de pico normalizadas correspondentes aos compostos estudados foram utilizadas para plotar os gráficos.

Tabela 23 - Planejamento Doehlert para tempo e adição de sal para a extração

Planejamento Experimental – Solvente de Dessorção				
Experimento	Valores codificados		Valores reais	
	Sal	Tempo	Sal (%)	Tempo (min)
1	0	-1	15	20
2	-0,866	-0,5	0	25
3	0,866	-0,5	30	25
4 (ponto central)	0	0	15	30
5 (ponto central)	0	0	15	30
6 (ponto central)	0	0	15	30
7	-0,866	0,5	0	35
8	0,866	0,5	30	35
9	0	1	15	40

Fonte: Autoria Própria

6.1.5 Comparação da técnica proposta (RSE) e RDSE

Um estudo comparativo foi realizado, utilizando a técnica RDSE modificada com cortiça em lâmina e a técnica proposta RSE contendo a cortiça em forma de disco.

Condições foram fixadas de acordo com os parâmetros já otimizados para as duas técnicas:

- RSE: disco contendo 0,16 g de cortiça, 30 mL de amostra, 30% de NaCl, tempo de extração de 35 minutos à temperatura ambiente e na máxima velocidade de agitação fornecida pelo agitador magnético. Para a dessorção, 1 mL de acetato de etila por 30 minutos.
- RDSE: Para a extração em lâmina, 0,03 g de cortiça, 30 mL de amostra, sem adição de sal e 10 minutos de extração. Para a dessorção, 1 mL de metanol foi utilizado como solvente durante 20 minutos à temperatura ambiente.

6.1.6 Figuras analíticas de mérito

As principais figuras de mérito (coeficiente de determinação linear, faixa linear, limite de detecção, limite de quantificação, exatidão e precisão) foram determinadas utilizando as condições otimizadas de extração. As curvas de calibração foram obtidas pela plotagem da área do pico *versus* a concentração de analitos, considerando cinco níveis de concentração ($n = 3$), adicionados em uma faixa de 3,125-100 $\mu\text{g L}^{-1}$ para todos os analitos, exceto para carbofurano que foram adicionados no intervalo de 6,25-100 $\mu\text{g L}^{-1}$. Os coeficientes de determinação foram calculados com base nas curvas de calibração e o limite de quantificação (LOQ) foi adotado como o primeiro nível de concentração do intervalo linear para cada analito, enquanto, o limite de detecção (LOD) foi obtido dividindo o LOQ por 3,3.

A precisão do método foi calculada com base no desvio padrão relativo (RSD). A exatidão (recuperações relativas, $n = 3$) e a precisão (intra-dia, $n = 3$ e inter-dia, $n = 9$) do método foram avaliadas realizando-se extrações em amostra de água de lavagem de produtos de hortifrúti enriquecidas em três diferentes concentrações (6,25, 12,5 e 25 $\mu\text{g L}^{-1}$ para todos outros analitos).

6.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

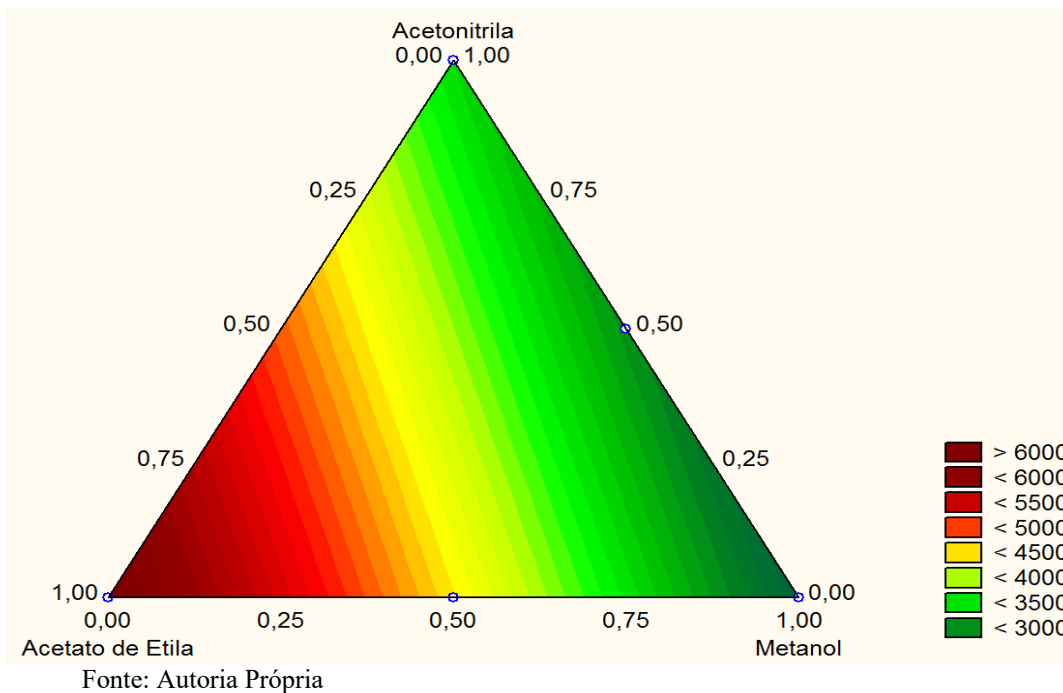
6.2.1 Otimização das condições da ESR

6.3.2.2 Otimização da dessorção líquida

Para garantir uma boa eficiência de extração, a dessorção foi otimizada. No capítulo anterior, a otimização para analitos similares apresentaram dois resultados eficientes (utilizando 50:50 v/v/ MeOH: AcOEt e Acetona). Porém devido a alta volatilidade da acetona, no novo estudo foi proposto a alteração para acetonitrila. Além disso, a troca é justificada pelos solventes terem valores de log P semelhantes (acetona - 0,16 e acetonitrila - 0,45). Dessa forma, o melhor solvente ou mistura de solventes foi avaliado entre MeOH, ACN e AcOEt utilizando um planejamento simples-centride.

A Figura 41 mostra a superfície de resposta das médias geométricas dos analitos como uma condição de compromisso obtida pela otimização do solvente de dessorção.

Figura 41 - Superfície Simplex-Centróide para escolha do solvente de dessorção da metodologia proposta

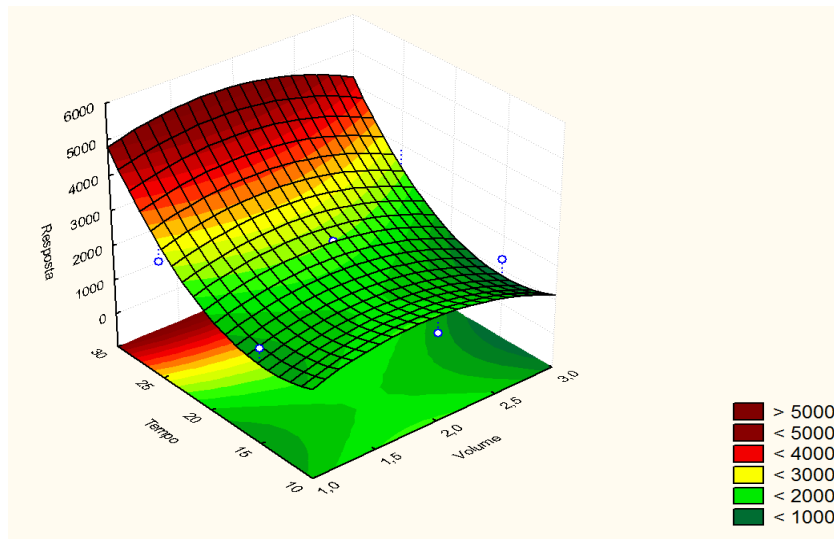


Os três solventes foram selecionados de acordo com suas polaridades (log P: metanol - 0,72, acetonitrila - 0,45 e acetato de etila 0,71 – valores obtidos com a calculadora de log P “ACD/LogP”). Entretanto é possível observar na Figura 41 que melhores resultados são observados com a utilização do acetato de etila (solvente menos polar). O resultado está de acordo com o esperado devido à similaridade com a polaridade dos analitos.

Após a otimização do solvente de dessorção, o tempo de dessorção e o volume de solvente foram avaliados usando um planejamento Doehlert. A menor quantidade de solvente de dessorção deve ser usada para evitar a diluição excessiva dos analitos. Porém, quantidades maiores de solvente são capazes de cobrir todo o disco, resultando em maiores sinais analíticos. Essa dualidade pode ser evidenciada pela resposta do planejamento demonstrado na Figura 42. Volumes acima de 2,5 mL começam a apresentar resultados piores uma vez que fornecem menores sinais analíticos. Embora a faixa de 1 mL a 2,5 mL apresentem resultados semelhantes, o volume ótimo foi determinado como 1 mL. Menores quantidades de solventes orgânicos aplicados à técnica são mais interessantes, uma vez que a mesma se torna ambientalmente amigável e verde. Com relação ao tempo, embora os analitos tenham uma boa afinidade pelo solvente, tempos de dessorção altos foram requeridos. Isso é

justificado pela grande quantidade de fase extratora que compõe o disco. Dessa forma, 30 min foram utilizados para o tempo de dessorção e 1 mL de AcOEt como solvente.

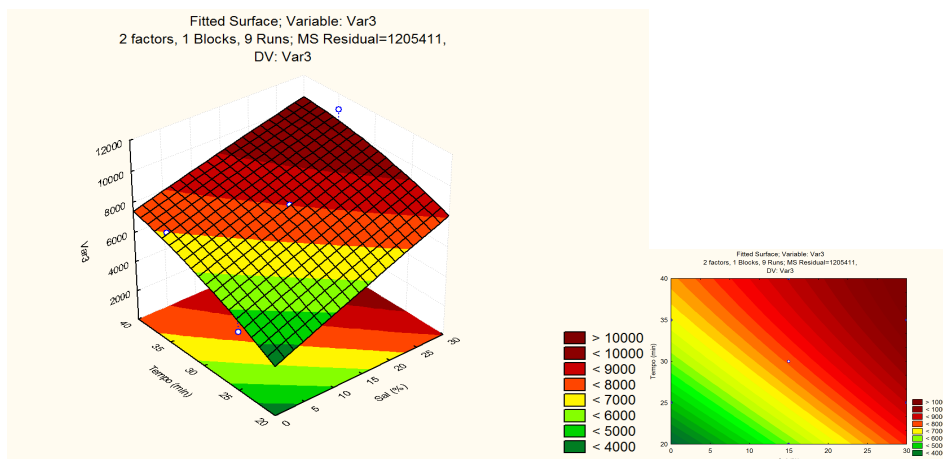
Figura 42 - Superfície de resposta para a otimização de tempo e volume de solvente de dessorção



6.1.2.2 Otimização da extração

Estudos anteriores apresentaram resultados em que agitação e pH não eram parâmetros que necessitavam otimização para analitos e técnicas similares. No parâmetro de agitação, é conhecido que maiores velocidades promovem uma extração mais eficiente, uma vez que essa diminui a camada limite entre as fases, promovendo uma melhor difusão dos analitos pelo meio. Já com relação ao pH da amostra para extração, molinato e trifluralina não contém hidrogênios ionizáveis; carbofurano (pKa básico 14,76), atrazina (pKa ácido 4,2 e pKa básico 14,48) e tebuconazol (pKa ácido 2,01 e básico 13,85) estão nas suas formas neutras em pH da matriz de água de lavação, não necessitando assim da adição de tampão e otimização – uma vez que águas para consumo humano apresentam pH de 6 a 9,5 (“PORTARIA DE CONSOLIDAÇÃO No 5”, 2017).

Figura 43 - Resposta da otimização da extração para os parâmetros de tempo e adição de sal



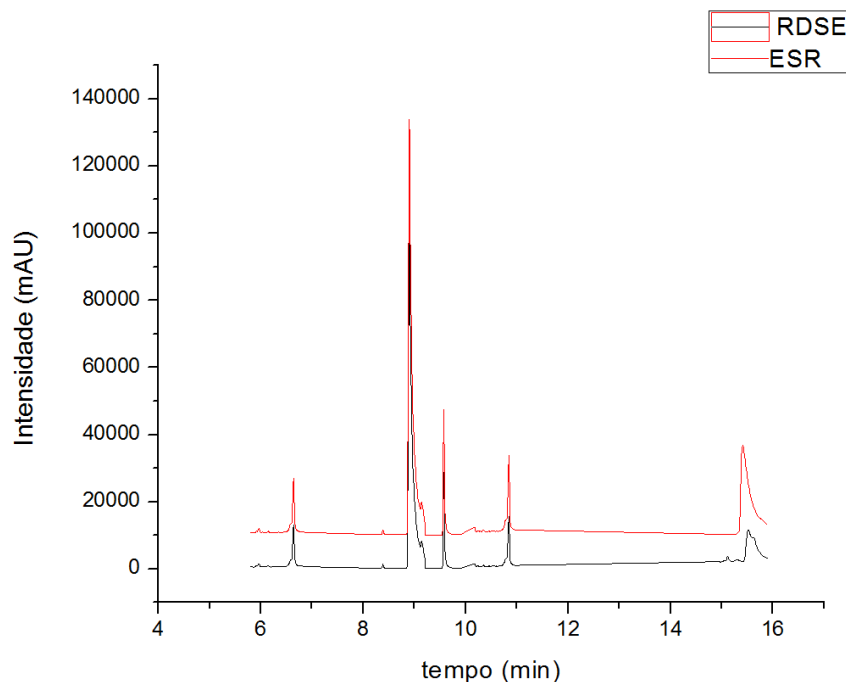
Fonte: Autoria Própria

A otimização do tempo de extração e da adição de sal foi otimizada. A Figura 43 apresenta a resposta da superfície. A extração apresentou resposta analítica eficiente para tempos maiores que 25 min – quando utilizado sal. Como era esperado, em decorrência do disco ter maior quantidade de sorvente, maiores tempos de extração foram requeridos. O uso de sal aumenta a força iônica da amostra, levando ao efeito de *salting out*, o que facilita a migração do analito da amostra para o sorvente. Como tempos maiores de extração foram necessários, quantidades maiores de sal facilitaram a extração. Dessa forma, 35 minutos e 30% de sal (m/v) foram determinados como ótimo para a extração.

6.2.2 Comparação da eficiência da extração utilizando RSE e RDSE

A comparação entre a técnica de RDSE modificada com lâmina de cortiça e a nova proposta nomeada como extração em sorvente rotativo (RSE) está apresentada na Figura 44.

Figura 44 - Comparação de sinais analíticos pelos cromatogramas das técnicas RDSE modificada e RSE.

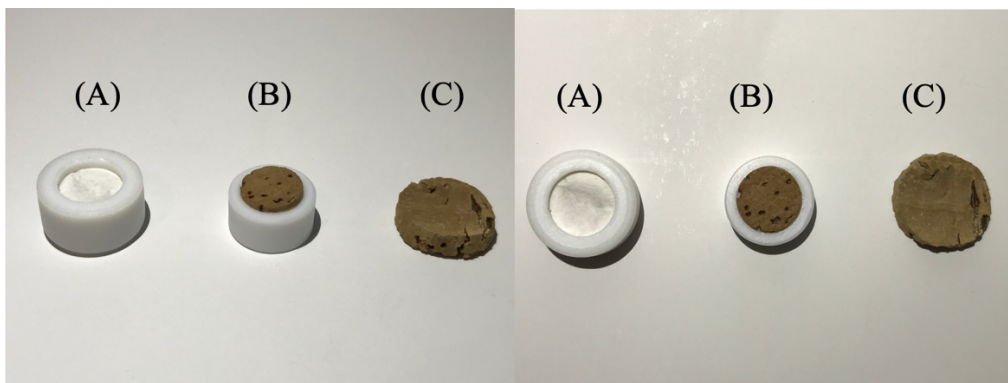


Fonte: Autoria Própria

Como é possível observar, a nova técnica apresenta melhores sinais analíticos – em média 30% maiores do que a técnica RDSE modificada. Como o novo aparato contém maiores quantidades de sorvente – no mínimo 5 vezes mais comparado com a lâmina de cortiça, quantidades maiores de analitos podem ser extraídos. Porém, exatamente pelo mesmo motivo, tempos de extração e dessorção mais longos são requeridos. Entretanto, isso não seria uma limitação da técnica, uma vez que uma série de 6 agitadores possibilita extrações simultâneas favorecendo para uma metodologia com frequência analítica satisfatória.

Além da melhora na eficiência da extração, a RSE apresenta uma alternativa interessante uma vez que não é necessário aparato algum em Teflon. A Figura 45 apresenta a técnica RDSE clássica (segunda configuração), a RDSE modificada com lâmina de cortiça (em que ainda é utilizada a base de Teflon proveniente da RDSE clássica) e por último a RSE em que é necessário apenas um agitador magnético e rolhas de cortiça recicladas.

Figura 45 – Apresentação de (A) RDSE clássico (segunda configuração), (B) RDSE modificada com lâmina de cortiça e (C) nova técnica RSE (utilizada no desenvolvimento da metodologia)



Fonte: Autoria Própria

6.2.3 Parâmetros analíticos de mérito

As figuras analíticas de mérito são apresentadas na Tabela 24. O coeficiente de determinação linear (R^2) foi maior que 0,99 para todos os analitos, indicando bom ajuste linear. Os valores de LOD e LOQ foram satisfatoriamente obtidos sem necessidade da etapa de evaporação. A metodologia também apresentou resultados satisfatórios para a precisão e exatidão do método. A precisão inter e intra-dia apresentou valores de RSD menores que 13% e 24%, respectivamente (Tabela 25)

Tabela 24 - Parâmetros analíticos de mérito para a metodologia desenvolvida

Analito	Faixa Linear ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Equação da reta	R²	LOD^a ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LOQ^b ($\mu\text{g L}^{-1}$)
Carbofurano	6,25-100	$y = 35,683x - 262,83$	0,9901	1,89	6,25
Molinato	3,125-100	$y = 299,91x - 1102,7$	0,9955	0,95	3,125
Trifluralina	3,125-100	$y = 179,1x - 602,64$	0,9977	0,95	3,125
Atrazina	3,125-100	$y = 220,87x - 1352,4$	0,9901	0,95	3,125
Tebuconazol	3,125-100	$y = 246,01x + 732,54$	0,9914	0,95	3,125

Fonte: Autoria Própria

^a LOD foi obtido dividindo o LOQ por 3,3

^b LOQ foi adotado como a primeiro nível concentração do intervalo linear para cada analito.

Tabela 25 - Precisão (inter-dia e intra-dia) para extração de pesticidas em água de lavação

Analito	Add* ($\mu\text{g L}^{-1}$)	RSD, intra-dia (%) (n = 3)	RSD, inter-dia (%) (n = 6)
Carbofurano	6,25	11,58	15,72
	12,5	16,69	2,64
	25	5,63	9,22
Molinato	6,25	9,83	2,39
	12,5	9,62	3,23
	25	6,49	7,88
Trifluralina	6,25	8,33	4,04
	12,5	12,32	11,12
	25	12,91	7,44
Atrazina	6,25	8,00	23,57
	12,5	0,98	10,66
	25	6,10	15,64
Tebuconazol	6,25	12,69	8,40
	12,5	4,52	2,49
	25	2,44	12,2

Fonte: Autoria Própria

*concentração de analito fortificado na amostra

Para determinar a precisão do método, três diferentes concentrações de analito foram utilizadas para determinar recuperações relativas. As recuperações relativas são apresentadas na Tabela 26. Para o estudo, uma amostra de água de lavação foi utilizada não sendo detectado sinais analíticos.

Tabela 26 - Estudos de exatidão através da recuperação dos analitos em amostra de água de lavação de vegetais e frutas.

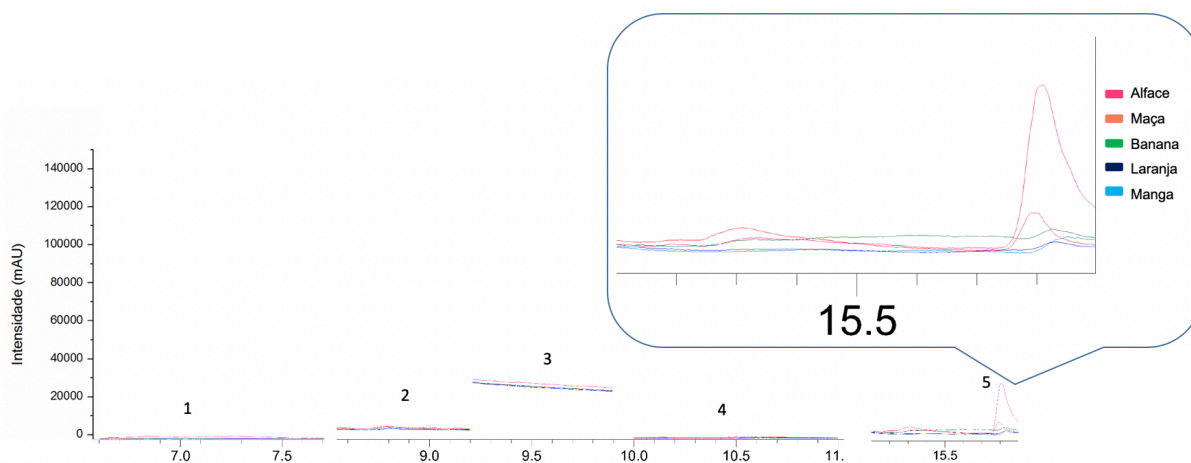
Analitos	Add* ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Recuperação (%) Amostra
Carbofurano	sem adição	< LOD
	6,25	135,8
	12,5	100,2
	25	84,4
Molinato	sem adição	< LOD
	6,25	121,4
	12,5	99,5
	25	95,1
Trifluralina	sem adição	< LOD
	6,25	111,7
	12,5	110,8
	25	95,9
Atrazina	sem adição	< LOD
	6,25	126,5
	12,5	102,4
	25	102,0
Tebuconazol	sem adição	< LOD
	6,25	115,2
	12,5	116,6
	25	95,9

Fonte: Autoria Própria

*concentração de analito fortificado na amostra.

Os cinco analitos foram satisfatoriamente determinados pela metodologia de baixo custo e quantificados nas amostras conforme Figura 46. Carbofurano, Molinato, Trifluralina e Atrazina não foram encontrados em nenhuma das amostras aplicadas Já tebuconazol foi encontrado em amostra de alface e maçã, sendo quantificado em 27,26 e 2,42 $\mu\text{g.L}^{-1}$ respectivamente.

Figura 46 - Cromatograma para aplicação da metodologia para a determinação de pesticidas em amostras de hotifrúti. Analitos: (1) Carbofurano, (2) Molinato, (3) Trifluralina, (4) Atrazina, (5) Tebuconazol



A aplicação da metodologia desenvolvida é interessante para análise de água de lavação de produtos de hortifrúti uma vez que esses pesticidas são amplamente utilizados para esse fim. Tebuconazol tem seu uso liberado no Brasil e na Europa sendo vastamente aplicado em hortaliças e frutas. Embora haja regulamentação de quantidades máximas permitidas, a fiscalização se faz importante. Molinato, trifluralina e atrazina são proibidos na Europa, porém liberados para utilização no Brasil. Ambos são utilizados em plantações de milho e cana de açúcar. Já o carbofurano, apontado como altamente tóxico, foi banido das plantações de cana-de-açúcar, café e banana na Resolução 185 de 2017 da Agência Brasileira de Vigilância Sanitária. Porém, como o prazo para a retirada do mercado era a partir de 19 de maio de 2019, grandes quantidades do composto estarão ativas no decorrer dos anos – uma vez que o carbofurano é persistente.

6.4 CONCLUSÕES PARCIAIS

A metodologia desenvolvida com o uso cortiça natural em formato de disco apresenta uma nova técnica de extração simples, de fácil confecção e baixo custo. Biosorventes são de interessante aplicação uma vez que são de fácil acesso e fortalecem o desenvolvimento de metodologias verdes. Além disso, a nova técnica apresentou resultados competitivos com técnicas já consolidadas como RDSE. A metodologia desenvolvida teve parâmetros otimizados de acordo com o novo aparato, apresentando resultados de acordo com o previsto. A utilização da técnica possibilitou a determinação de 5 pesticidas potenciais contaminantes presentes em águas de lavação de frutas,

vegetais e hortaliças. Com as novas políticas de liberação para utilização de pesticidas antes proibidos fica necessário cada vez mais o desenvolvimento de métodos acessíveis e capazes de determinar níveis traço desses contaminantes tóxicos. A metodologia em questão não utilizou de uma etapa de secagem de solvente de dessorção porém, para suprir futuras legislações mais rígidas, essa etapa poderia ser adicionada no final do preparo de amostras.

6.5 RESUMO DAS METODOLOGIAS DESENVOLVIDAS

A Tabela 25 apresenta os principais parâmetros de otimização e validação para as metodologias desenvolvidas ao longo do trabalho.

Tabela 25 - Metodologias desenvolvidas

Técnica	RDSE (2° configuração)			RDSE Modificada	RSE
Instrumentação	HPLC-MS/MS			GC - MS	GC - MS
Analitos	Parabenos			Multiresíduos	Pesticidas
Fase extratora	cortiça em pó	MMT- IL	C18	Cortiça em lâmina	Disco de cortiça
Quantidade fase extratora	0,005 g			0,03 g	0,16 g
Volume de solvente de dessorção	3 mL			1 mL	1 mL
LOQ ($\geq \mu\text{g L}^{-1}$)	0,8	3,0	6,0	0,09 – 4,19	3,125 – 6,25

Tempo total de preparo por amostra (min)	6,7	8,4	8,4	5	10,8
Referência	Capítulo 4			Capítulo 5	Este trabalho

Fonte: Autoria Própria

7 CONCLUSÕES FINAIS

Métodos desenvolvidos com a técnica RDSE utilizando biossorventes apresentaram bons resultados quando comparados com sorventes comerciais como C18. A aplicação de cortiça e argila modificada com líquido iônico para extrações utilizando RDSE indicam um novo caminho para novos desenvolvimentos de metodologias. Além disso, a utilização de solvente não orgânico apresentou um avanço com relação a técnicas ambientalmente amigáveis. Porém, devido à cavidade do disco ser limitada, a proposta de modificação do aparato se mostrou interessante.

Estudos comparativos da técnica RDSE clássica com a RDSE modificada utilizando lâminas de cortiça confirmam a vantagem. Com a aplicação do sorvente em lâmina não é necessário utilizar a tampa de Teflon do disco, diminuindo significativamente seu tamanho e resultando em melhores sinais analíticos. Isso porque, uma vez que maiores quantidades de sorventes podem ser acomodadas no disco, menores volumes de solvente são necessários para a dessorção líquida. Com essa modificação, uma metodologia foi desenvolvida para a quantificação de 20 micropoluentes multiclasse, sendo aplicada para água superficial. Além da vasta aplicação, a metodologia foi desenvolvida com a utilização de um sistema artesanal de agitadores, aumentando grandemente a frequência analítica e obtendo uma metodologia com tempo total de extração por amostra de 5 minutos.

Por fim, o desenvolvimento de uma metodologia utilizando materiais de fácil acesso foi proposto. Embora as metodologias utilizando RDSE apresentem ótimos resultados, os discos ainda são de difícil fabricação. Dessa forma, desenvolver uma técnica alternativa é interessante. A extração em sorventes rotativos (RSE) requer rolhas recicladas e agitador magnético. Sua confecção é simples e de baixo custo, sendo fácil de reproduzir suas unidades para extrações simultâneas. Além disso, a técnica possibilita a exploração de outros materiais sorventes em substituição à cortiça. A metodologia proposta para determinação de pesticidas em águas de lavagem de hortifrúti apresentou resultados de acordo com as legislações vigentes brasileiras, sendo possível adicionar uma etapa de secagem para adequação de futuras legislações mais conservadoras.

O desenvolvimento de metodologias analíticas que se enquadrem na química analítica verde são continuamente almejados. Além disso, técnicas de preparo de amostra que combinem baixo custo e fácil aquisição dos materiais são mais acessíveis, facilmente difundidas e exploradas para diferentes aplicações.

8 REFERÊNCIAS

A. PHILIP, C.; S. GIRGIS, B. **Adsorption Characteristics of Microporous Carbons from Apricot Stones Activated by Phosphoric Acid.** [s.l: s.n.]. v. 67

ALAVANJA, M. C. R.; ROSS, M. K.; BONNER, M. R. Increased cancer burden among pesticide applicators and others due to pesticide exposure. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, v. 63, n. 2, p. 120–142, 2013.

AMORIM, C. **Consolidated Annual Report – Corticeira Amorim, s.G.p.s., s.A.Mozelos**, 2017.

ANGELOV, T.; VLASENKO, A.; TASHKOV, W. **HPLC Determination of pKa of Parabens and Investigation on their Lipophilicity Parameters.** [s.l: s.n.]. v. 31

ANTTILA, A. et al. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans: Some traditional herbal medicines, some mycotoxins, naphthalene and styrene. **IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans**, v. 82, 2002.

ARISMENDI, D. et al. Simultaneous determination of multiresidue and multiclass emerging contaminants in waters by rotating-disk sorptive extraction–derivatization-gas chromatography/mass spectrometry. **Talanta**, 2019.

ARTHUR, C. L. et al. Automation and optimization of solid-phase microextraction. **Analytical Chemistry**, v. 64, n. 17, p. 1960–1966, 1 set. 1992.

ARTHUR, C. L.; PAWLISZYN, J. Solid phase microextraction with thermal desorption using fused silica optical fibers. **Analytical Chemistry**, v. 62, n. 19, p. 2145–2148, 1 out. 1990.

ASIMAKOPOULOS, A. et al. **A multi-class bioanalytical methodology for the determination of bisphenol A diglycidyl ethers, p-hydroxybenzoic acid esters, benzophenone-type ultraviolet filters, triclosan, and triclocarban in human urine by liquid chromatography–tandem mass spectrometry.** [s.l: s.n.]. v. 1324

AUGUSTO, F. et al. Screening of Brazilian fruit aromas using solid-phase microextraction–gas chromatography–mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 873, n. 1, p. 117–127, 2000.

B. BALTUSSEN, E.; CRAMERS, C. A.; SANDRA, P. **Sorptive sample preparation—A review.** [s.l: s.n.]. v. 373

BALTUSSEN, E. et al. **Stir Bar Sorptive Extraction (SBSE), a novel extraction technique for aqueous samples: theory and principles.** [s.l: s.n.]. v. 11

BANAT, F.; AL-ASHEH, S. **The Use of Columns Packed with Chicken Feathers for the Removal of Phenol from Aqueous Solutions.** [s.l: s.n.]. v. 19

BANAT, F.; AL-ASHEH, S. **The Use of Human Hair Waste as a Phenol Biosorbent.** [s.l: s.n.]. v. 19

BECERRA-HERRERA, M. et al. Chemometric optimization of the extraction and derivatization of parabens for their determination in water samples by rotating-disk sorptive extraction and gas chromatography mass spectrometry. **Talanta**, v. 176, p. 551–557, 2018.

BECERRA-HERRERA, M.; HONDA, L.; RICHTER, P. Ultra-high-performance liquid chromatography—Time-of-flight high resolution mass spectrometry to quantify acidic drugs in wastewater. **Journal of Chromatography A**, v. 1423, p. 96–103, 2015.

BLESA, J. et al. Oxidative stress and Parkinson's disease. **Frontiers in neuroanatomy**, v. 9, p. 91, 2015.

BOGGESE, A. J. et al. An accurate and transferable protocol for reproducible quantification of organic pollutants in human serum using direct isotope dilution mass spectrometry. **Analyst**, v. 139, n. 23, p. 6223–6231, 2014.

BORGES, K. B.; FIGUEIREDO, E. C. DE; QUEIROZ, M. E. C. P. P.-R. DE J. **Preparo de amostras para análise de compostos orgânicos**LTC, , 2015.

BOSTROM, C.-E. et al. SPECIAL REPORT: CANCER RISK ASSESSMENT FOR POLYCYCLIC AROMATIC HYDROCARBONS-Cancer Risk Assessment, Indicators, and Guidelines for Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the Ambient Air. **Environmental Health Perspectives Supplement**, v. 110, n. 3, p. 451–488, 2002.

BOYACI, E. et al. Sample preparation with solid phase microextraction and exhaustive extraction approaches: Comparison for challenging cases. **Analytica Chimica Acta**, v. 873, p. 14–30, 2015.

BRACK, W.; DULIO, V.; SLOBODNIK, J. The NORMAN Network and its activities on emerging environmental substances with a focus on effect-directed analysis of complex environmental contamination. **Environmental Sciences Europe**, v. 24, n. 1, p. 29, 2012.

BROWN, S. K. et al. Concentrations of volatile organic compounds in indoor air—a review. **Indoor air**, v. 4, n. 2, p. 123–134, 1994.

CABRERA, H. M. Respuestas ecofisiológicas de plantas en ecosistemas de zonas con clima mediterráneo y ambientes de altamontaña. **Revista chilena de historia natural**, v. 75, p. 625–637, 2002.

CACHO, J. I. et al. Stir bar sorptive extraction with EG-Silicone coating for bisphenols determination in personal care products by GC-MS. **Journal of pharmaceutical and biomedical analysis**, v. 78–79, p. 255–260, maio 2013.

CACHO, J. I. et al. Stir bar sorptive extraction polar coatings for the determination of chlorophenols and chloroanisoles in wines using gas chromatography and mass spectrometry. **Talanta**, v. 118, p. 30–36, 2014.

CALDAS, M. M.; FERREIRA, J. L.; BORGES, M. Cortiça. **Boletim do Instituto dos Produtos Florestais**. Lisboa, v. 578, p. 339–342, 1986.

CAÑAS, A.; RICHTER, P. Solid-phase microextraction using octadecyl-bonded

silica immobilized on the surface of a rotating disk: Determination of hexachlorobenzene in water. **Analytica Chimica Acta**, v. 743, p. 75–79, 2012.

CAÑAS, A.; RICHTER, P.; ESCANDAR, G. M. Chemometrics-assisted excitation–emission fluorescence spectroscopy on nylon-attached rotating disks. Simultaneous determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in the presence of interferences. **Analytica Chimica Acta**, v. 852, p. 105–111, 2014.

CAÑAS, A.; VALDEBENITO, S.; RICHTER, P. **A new rotating-disk sorptive extraction mode, with a copolymer of divinylbenzene and N-vinylpyrrolidone trapped in the cavity of the disk, used for determination of florfenicol residues in porcine plasma** *Microextraction Techniques*. [s.l: s.n.]. v. 406

CARASEK, E.; MORÉS, L.; MERIB, J. Basic principles, recent trends and future directions of microextraction techniques for the analysis of aqueous environmental samples. **Trends in Environmental Analytical Chemistry**, v. 19, p. e00060, 2018.

CARRASCO-CORREA, E. J. et al. Sensitive determination of parabens in human urine and serum using methacrylate monoliths and reversed-phase capillary liquid chromatography-mass spectrometry. **Journal of chromatography. A**, v. 1379, p. 65–73, jan. 2015.

CARROTT, P. J. M.; RIBEIRO CARROTT, M. M. L.; MOURÃO, P. A. M. Pore size control in activated carbons obtained by pyrolysis under different conditions of chemically impregnated cork. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, v. 75, n. 2, p. 120–127, 2006.

CHISVERT, A.; BENEDÉ, J. L.; SALVADOR, A. Current trends on the determination of organic UV filters in environmental water samples based on microextraction techniques – A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 1034, p. 22–38, 2018.

CONDE, E. et al. **Chemical Characterization of Reproduction Cork from Spanish Quercus Suber**. [s.l: s.n.]. v. 18

CORROTEA, Y. et al. **Determination of Hormones in Wastewater Using Rotating Disk Sorptive Extraction and Gas Chromatography – Mass Spectrometry**. [s.l: s.n.]. v. 49

COSTA, C. et al. Influence of genetic polymorphism on pesticide-induced oxidative stress. **Current Opinion in Toxicology**, v. 13, p. 1–7, 2019.

CRINI, G. Non-conventional low-cost adsorbents for dye removal: A review. **Bioresource Technology**, v. 97, n. 9, p. 1061–1085, 2006.

DAVID, F.; OCHIAI, N.; SANDRA, P. Two decades of stir bar sorptive extraction: A retrospective and future outlook. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 112, p. 102–111, 2019.

DEME, P. et al. An improved dispersive solid-phase extraction clean-up method for the gas chromatography–negative chemical ionisation tandem mass spectrometric determination of multiclass pesticide residues in edible oils. **Food Chemistry**, v. 142, p.

144–151, 2014.

DIAS, A. N. et al. 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. et al. 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.

DIXON, S. L.; JURIS, P. C. Estimation of pKa for organic oxyacids using calculated atomic charges. **Journal of Computational Chemistry**, v. 14, n. 12, p. 1460–1467, 1 dez. 1993.

DODSON, R. et al. **Endocrine Disruptors and Asthma-Associated Chemicals in Consumer Products**. [s.l: s.n.]. v. 120

DONATO, F. F. et al. Evaluation of the rotating disk sorptive extraction technique with polymeric sorbent for multiresidue determination of pesticides in water by ultra-high-performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1516, p. 54–63, 2017.

DORDIO, A. et al. **Pharmaceuticals sorption behaviour in granulated cork for the selection of a support matrix for a constructed wetlands system**. [s.l: s.n.]. v. 91

DRWAL, E.; RAK, A.; GREGORASZCZUK, E. L. Review: Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs)—Action on placental function and health risks in future life of newborns. **Toxicology**, v. 411, p. 133–142, 2019.

DUDAREVA, N. et al. Plant volatiles: recent advances and future perspectives. **Critical reviews in plant sciences**, v. 25, n. 5, p. 417–440, 2006.

EBELE, A. J.; ABOU-ELWAFAB ABDALLAH, M.; HARRAD, S. Pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in the freshwater aquatic environment. **Emerging Contaminants**, v. 3, n. 1, p. 1–16, 2017.

F. BENTO, M. et al. **Fragmentation of Suberin and Composition of Aliphatic Monomers Released by Methanolysis of Cork from Quercus suber L., Analysed by GC-MS, SEC and MALDI-MS**. [s.l: s.n.]. v. 55

FARRÉ, M. LA et al. Fate and toxicity of emerging pollutants, their metabolites and transformation products in the aquatic environment. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 27, n. 11, p. 991–1007, 2008.

FENGA, C. et al. IL-17 and IL-22 serum levels in greenhouse workers exposed to pesticides. **Inflammation Research**, v. 63, n. 11, p. 895–897, 2014.

FERNANDES, E. M. et al. Cork based composites using polyolefin's as matrix: Morphology and mechanical performance. **Composites Science and Technology**, v. 70, n. 16, p. 2310–2318, 2010.

FERREIRA, J. et al. Chemical and cellular features of virgin and reproduction cork from Quercus variabilis. **Industrial Crops and Products**, v. 94, p. 638–648, 2016.

FISCAL-LADINO, J. A. et al. Ionic liquids intercalated in montmorillonite as the sorptive phase for the extraction of low-polarity organic compounds from water by rotating-disk sorptive extraction. **Analytica Chimica Acta**, v. 953, p. 23–31, 2017.

GARCIA, A. et al. **The Problem of 2,4,6-Trichloroanisole in Cork Planks Studied by Attenuated Total Reflection Infrared Spectroscopy: Proof of Concept.** [s.l: s.n.]. v. 63

GEISSEN, V. et al. Emerging pollutants in the environment: A challenge for water resource management. **International Soil and Water Conservation Research**, v. 3, n. 1, p. 57–65, 2015.

GIL, L. Cork powder waste: An overview. **Biomass and Bioenergy**, v. 13, n. 1, p. 59–61, 1997.

GIL, L. **Cork Composites: A Review.** [s.l: s.n.]. v. 2

GILART, N. et al. **New Coatings for Stir-Bar Sorptive Extraction of Polar Emerging Organic Contaminants.** [s.l: s.n.]. v. 54

GIORDANO, A.; RICHTER, P.; AHUMADA, I. Determination of pesticides in river water using rotating disk sorptive extraction and gas chromatography–mass spectrometry. **Talanta**, v. 85, n. 5, p. 2425–2429, 2011.

GIULIVO, M. et al. **Human exposure to endocrine disrupting compounds: Their role in reproductive systems, metabolic syndrome and breast cancer. A review.** [s.l: s.n.]. v. 151

GLÁUCIA F, P. et al. **A Headspace Solid Phase Microextraction (HS-SPME) method for the chromatographic determination of alkylpyrazines in cocoa samples.** [s.l: s.n.]. v. 15

HAN, L. et al. Evaluation of a recent product to remove lipids and other matrix co-extractives in the analysis of pesticide residues and environmental contaminants in foods. **Journal of Chromatography A**, v. 1449, p. 17–29, 2016.

HUANG, G. et al. Speciation of anthropogenic emissions of non-methane volatile organic compounds: a global gridded data set for 1970–2012. **Atmospheric Chemistry and Physics**, v. 17, n. 12, p. 7683, 2017.

J. ANTAL JR, M.; GRØNLI, M. **The Art, Science, and Technology of Charcoal Production.** [s.l: s.n.]. v. 42

JACHERO, L. et al. **New biomimetic approach to determine the bioavailability of triclosan in soils and its validation with the wheat plant uptake bioassay.** [s.l: s.n.]. v. 119C

KALIA, S.; AVÉROUS, L. **Biopolymers: Biomedical and Environmental applications**New JerseyJohn Wiley & Sons, , 2011.

KAWAGUCHI, M. et al. Determination of 4-nonylphenol and 4-tert.-octylphenol

in water samples by stir bar sorptive extraction and thermal desorption–gas chromatography–mass spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 505, n. 2, p. 217–222, 2004.

KIM, K.-H.; KABIR, E.; JAHAN, S. A. Exposure to pesticides and the associated human health effects. **Science of the Total Environment**, v. 575, p. 525–535, 2017.

KOESUKWIWAT, U. et al. Extension of the QuEChERS Method for Pesticide Residues in Cereals to Flaxseeds, Peanuts, and Doughs. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, n. 10, p. 5950–5958, 26 maio 2010.

KOHLER, I.; SCHAPPLER, J.; RUDAZ, S. Microextraction techniques combined with capillary electrophoresis in bioanalysis. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 405, n. 1, p. 125–141, 2013.

KRÜGER, O. et al. Comparison of stir bar sorptive extraction (SBSE) and liquid–liquid extraction (LLE) for the analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in complex aqueous matrices. **Talanta**, v. 85, n. 3, p. 1428–1434, 2011.

LEE, S.-Y. et al. Development of a Quantitative Analytical Method for Determining the Concentration of Human Urinary Paraben by LC-MS/MS. **Analytical Method of Parabens in Human Urine**, v. 34, n. 4, p. 1131–1136, 2013.

LEGROURI, K. et al. Production of activated carbon from a new precursor molasses by activation with sulphuric acid. **Journal of Hazardous Materials**, v. 118, n. 1, p. 259–263, 2005.

LEI, Y.; JIA, T.; SONG, X. **Chemical composition of cork from *Quercus variabilis***. [s.l: s.n.]. v. 44

LEQUIN, S. et al. **Adsorption Equilibria of Sulfur Dioxide on Cork**. [s.l: s.n.]. v. 60

LEUSCH, F. D. L. et al. Transformation of endocrine disrupting chemicals, pharmaceutical and personal care products during drinking water disinfection. **Science of The Total Environment**, v. 657, p. 1480–1490, 2019.

LIU, W. et al. Determination of organophosphorus pesticides in cucumber and potato by stir bar sorptive extraction. **Journal of Chromatography A**, v. 1095, n. 1, p. 1–7, 2005.

LUCENA, R. Extraction and stirring integrated techniques: examples and recent advances. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 403, n. 8, p. 2213–2223, 2012.

MADEJ, K.; KALENIK, T. K.; PIEKOSZEWSKI, W. Sample preparation and determination of pesticides in fat-containing foods. **Food Chemistry**, v. 269, p. 527–541, 2018.

MAFRA, G. et al. Low-cost approach to increase the analysis throughput of bar adsorptive microextraction (BAmicroE) combined with environmentally-friendly renewable sorbent phase of recycled diatomaceous earth. **Talanta**, v. 178, p. 886–893, fev. 2018.

MANZO, V. et al. Determination of crystal violet in water by direct solid phase spectrophotometry after rotating disk sorptive extraction. **Talanta**, v. 106, p. 305–308, 2013.

MANZO, V. et al. Microextraction of non-steroidal anti-inflammatory drugs from waste water samples by rotating-disk sorptive extraction. **Talanta**, v. 128, p. 486–492, 2014.

MANZO, V. et al. A molecularly imprinted polymer as the sorptive phase immobilized in a rotating disk extraction device for the determination of diclofenac and mefenamic acid in wastewater. **Analytica Chimica Acta**, v. 889, p. 130–137, 2015.

MANZO, V.; MIRÓ, M.; RICHTER, P. Programmable flow-based dynamic sorptive microextraction exploiting an octadecyl chemically modified rotating disk extraction system for the determination of acidic drugs in urine. **Journal of Chromatography A**, v. 1368, p. 64–69, 2014.

MAYER, P. et al. Quantifying the effect of medium composition on the diffusive mass transfer of hydrophobic organic chemicals through unstirred boundary layers. **Environmental science & technology**, v. 39, n. 16, p. 6123–6129, ago. 2005.

MENDES, L. D. et al. Development of an eco-friendly method for the determination of total polychlorinated biphenyls in solid waste by gas chromatography-mass spectrometry. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 6, n. 4, p. 5042–5048, 2018.

MESTER, Z.; STURGEON, R.; PAWLISZYN, J. Solid phase microextraction as a tool for trace element speciation. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 56, n. 3, p. 233–260, 2001.

MESTRE, A. S. et al. Activated carbons prepared from industrial pre-treated cork: Sustainable adsorbents for pharmaceutical compounds removal. **Chemical Engineering Journal**, v. 253, p. 408–417, 2014.

MIRANDA, I.; GOMINHO, J.; PEREIRA, H. **Cellular structure and chemical composition of cork from the Chinese cork oak (*Quercus variabilis*)**. [s.l: s.n.]. v. 59

MIRNAGHI, F. S. et al. Microextraction versus exhaustive extraction approaches for simultaneous analysis of compounds in wide range of polarity. **Journal of Chromatography A**, v. 1316, p. 37–43, 2013.

MONTERO-MONTOYA, R.; LÓPEZ-VARGAS, R.; ARELLANO-AGUILAR, O. Volatile organic compounds in air: Sources, distribution, exposure and associated illnesses in children. **Annals of global health**, v. 84, n. 2, 2018.

NEVES DIAS, A. et al. **Use of green coating (cork) in solid-phase microextraction for the determination of organochlorine pesticides in water by gas chromatography-electron capture detection**. [s.l: s.n.]. v. 134C

NIU, Z. et al. Recent advances in biological sample preparation methods coupled with chromatography, spectrometry and electrochemistry analysis techniques. **TrAC**

Trends in Analytical Chemistry, v. 102, p. 123–146, 2018.

NOGUEIRA, J. M. F. Extração Sortiva em Barra de Agitação (SBSE): uma metodologia inovadora para microextração estática. **Scientia Chromatographica**, v. 4, n. 4, p. 259–269, 2012.

NOVAIS, R. M. et al. Extremely fast and efficient methylene blue adsorption using eco-friendly cork and paper waste-based activated carbon adsorbents. **Journal of Cleaner Production**, v. 197, p. 1137–1147, 2018.

OMENA, E. et al. A green and simple sample preparation method to determine pesticides in rice using a combination of SPME and rotating disk sorption devices. **Analytica Chimica Acta**, 2019.

PAWLISZYN, J. **Solid phase microextraction: theory and practice** New York Wiley-VCH, , 1997.

PEÑA-GUZMÁN, C. et al. Emerging pollutants in the urban water cycle in Latin America: A review of the current literature. **Journal of Environmental Management**, v. 237, p. 408–423, 2019.

PEREIRA, H. Chemical composition of cork from *Quercus suber* L. **Anais do Instituto Superior de Agronomia**, v. XL, p. 9–15, 1982.

PEREIRA, H. Chemical composition and variability of cork from *Quercus suber* L. **Wood Science and Technology**, v. 22, n. 3, p. 211–218, 1988.

PIN LIAO, X.; LU, Z.; SHI, B. **Selective Adsorption of Vegetable Tannins onto Collagen Fibers**. [s.l: s.n.]. v. 42

PINTOR, A. M. A. et al. Use of cork powder and granules for the adsorption of pollutants: A review. **Water Research**, v. 46, n. 10, p. 3152–3166, 2012.

PINTOR, A. M. A. et al. Textural and Surface Characterization of Cork-Based Sorbents for the Removal of Oil from Water. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 52, n. 46, p. 16427–16435, 20 nov. 2013.

PORTARIA DE CONSOLIDAÇÃO No 5. Ministério da Saúde, , 2017.

QUESADA, H. B. et al. Surface water pollution by pharmaceuticals and an alternative of removal by low-cost adsorbents: A review. **Chemosphere**, v. 222, p. 766–780, 2019.

RAMAKRISHNAN, B. et al. Local applications but global implications: Can pesticides drive microorganisms to develop antimicrobial resistance? **Science of The Total Environment**, v. 654, p. 177–189, 2019.

RAZA, N. et al. Aromatic hydrocarbons in air, water, and soil: Sampling and pretreatment techniques. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 103, p. 56–73, 2018.

REYES-GARCÉS, N. et al. Advances in Solid Phase Microextraction and Perspective on Future Directions. **Analytical Chemistry**, v. 90, n. 1, p. 302–360, 2 jan.

2018.

RICHTER, P. et al. Rotating-disk sorptive extraction of nonylphenol from water samples. **Journal of Chromatography A**, v. 1216, n. 49, p. 8598–8602, 2009.

RICHTER, P. et al. Rotating disk sorbent extraction for pre-concentration of chromogenic organic compounds and direct determination by solid phase spectrophotometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 695, n. 1, p. 73–76, 2011.

RODRÍGUEZ-GÓMEZ, R. et al. Gas chromatography and ultra high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry methods for the determination of selected endocrine disrupting chemicals in human breast milk after stir-bar sorptive extraction. **Journal of Chromatography A**, v. 1349, p. 69–79, 2014.

SANTOS, F. J.; GALCERAN, M. T.; FRAISSE, D. Application of solid-phase microextraction to the analysis of volatile organic compounds in water. **Journal of Chromatography A**, v. 742, n. 1, p. 181–189, 1996.

SEN, A. et al. Chemical composition and cellular structure of corks from *Quercus suber* trees planted in Bulgaria and Turkey. **Wood Science and Technology**, v. 50, n. 6, p. 1261–1276, 2016.

ŞEN, A. et al. Thermal behaviour of cork and cork components. **Thermochemica Acta**, v. 582, p. 94–100, 2014.

SEXTON, K. et al. Comparison of personal, indoor, and outdoor exposures to hazardous air pollutants in three urban communities. **Environmental science & technology**, v. 38, n. 2, p. 423–430, 2004.

SHEN, X. et al. Application of dispersive liquid-liquid microextraction for the preconcentration of eight parabens in real samples and their determination by high-performance liquid chromatography. **Journal of separation science**, v. 40, n. 22, p. 4385–4393, nov. 2017.

SHIN, H.-M.; MCKONE, T. E.; BENNETT, D. H. Evaluating environmental modeling and sampling data with biomarker data to identify sources and routes of exposure. **Atmospheric environment**, v. 69, p. 148–155, 2013.

SHOPOVA, N.; MINKOVA, V.; MARKOVA, K. Evaluation of the thermochemical changes in agricultural by-products and in the carbon adsorbents obtained from them. **Journal of thermal analysis**, v. 48, n. 2, p. 309–320, 1997.

SILVA, S. P. et al. Cork: properties, capabilities and applications. **International Materials Reviews**, v. 50, n. 6, p. 345–365, 1 dez. 2005.

SOLTANI, S. **Biological sample preparation: Attempts on productivity increasing in bioanalysis**. [s.l: s.n.]. v. in press

SOTO, M. L. et al. Recovery, concentration and purification of phenolic compounds by adsorption: A review. **Journal of Food Engineering**, v. 105, n. 1, p. 1–27, 2011.

SOUZA-SILVA, É. A. et al. A critical review of the state of the art of solid-phase microextraction of complex matrices I. Environmental analysis. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 71, p. 224–235, 2015a.

SOUZA-SILVA, É. A. et al. A critical review of the state of the art of solid-phase microextraction of complex matrices III. Bioanalytical and clinical applications. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 71, p. 249–264, 2015b.

SOUZA-SILVA, É.; GIONFRIDDO, E.; PAWLISZYN, J. **A critical review of the state of art of solid-phase microextraction of complex matrices. Part II: Food Analysis.** [s.l: s.n.]. v. 71

SOUZA, I. D. et al. Selective molecularly imprinted polymer combined with restricted access material for in-tube SPME/UHPLC-MS/MS of parabens in breast milk samples. **Analytica chimica acta**, v. 932, p. 49–59, ago. 2016.

TANCREDI, N. et al. Phenol adsorption onto powdered and granular activated carbon, prepared from Eucalyptus wood. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 279, n. 2, p. 357–363, 2004.

THELOKE, J.; FRIEDRICH, R. Compilation of a database on the composition of anthropogenic VOC emissions for atmospheric modeling in Europe. **Atmospheric Environment**, v. 41, n. 19, p. 4148–4160, 2007.

THOMMES, M. et al. **Physisorption of gases, with special reference to the evaluation of surface area and pore size distribution (IUPAC Technical Report)** Pure and Applied Chemistry, 2015. Disponível em: <<https://www.degruyter.com/view/j/pac.2015.87.issue-9-10/pac-2014-1117/pac-2014-1117.xml>>

VILLAESCUSA, I. et al. Mechanism of paracetamol removal by vegetable wastes: The contribution of π - π interactions, hydrogen bonding and hydrophobic effect. **Desalination**, v. 270, n. 1, p. 135–142, 2011.

VILLAESCUSA, I.; MARTÍNEZ, M.; MIRALLES, N. Heavy metal uptake from aqueous solution by cork and yohimbe bark wastes. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology**, v. 75, n. 9, p. 812–816, 1 set. 2000.

WANG, S.; PENG, Y. Natural zeolites as effective adsorbents in water and wastewater treatment. **Chemical Engineering Journal**, v. 156, n. 1, p. 11–24, 2010.

WEN, Y. et al. Determination of ppq-levels of alkylmethoxypyrazines in wine by stirbar sorptive extraction combined with multidimensional gas chromatography-mass spectrometry. **Food Chemistry**, v. 255, p. 235–241, 2018.

YE, X. et al. Quantification of the urinary concentrations of parabens in humans by on-line solid phase extraction-high performance liquid chromatography-isotope dilution tandem mass spectrometry. **Journal of chromatography. B, Analytical technologies in the biomedical and life sciences**, v. 844, n. 1, p. 53–59, nov. 2006.

YOU, X.; PIAO, C.; CHEN, L. Preparation of a magnetic molecularly imprinted polymer by atom-transfer radical polymerization for the extraction of parabens from

fruit juices. **Journal of separation science**, v. 39, n. 14, p. 2831–2838, jul. 2016.

ZANG, M. et al. A Review of Recent Advances in Catalytic Combustion of VOCs on Perovskite-type Catalysts. **Journal of Saudi Chemical Society**, 2019.

9 Apêndice

9.2 APÊNDICE A

Figura 1 – A: Superfície resposta para a escolha solvente de dessorção utilizando Argila MMT-IL:

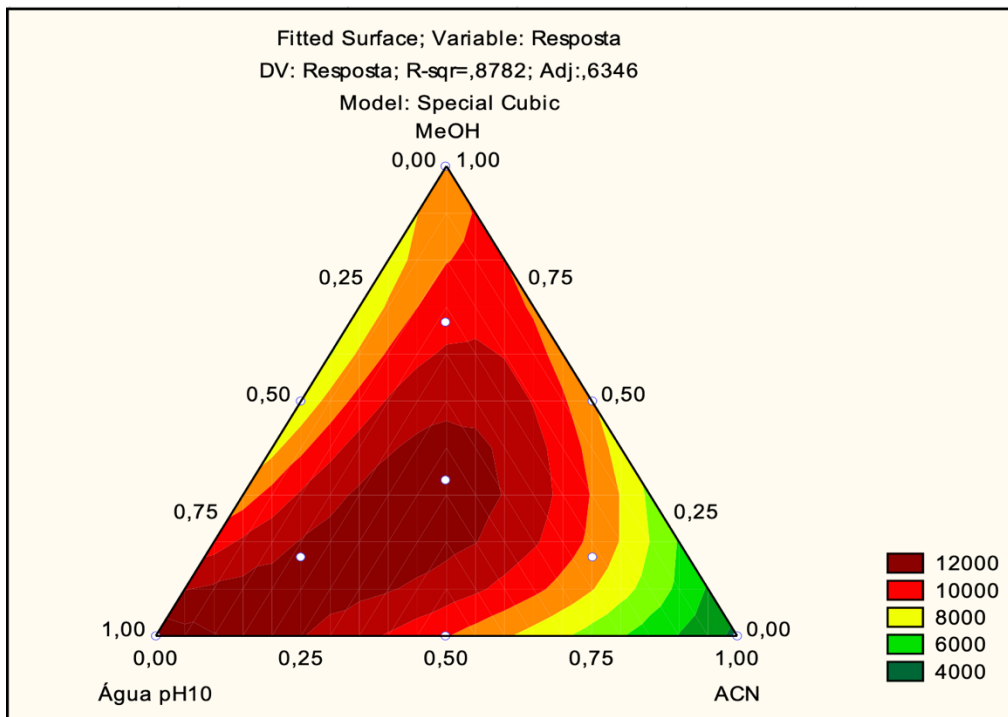


Figura 2 – A: Superfície resposta para a escolha solvente de dessorção utilizando C18:

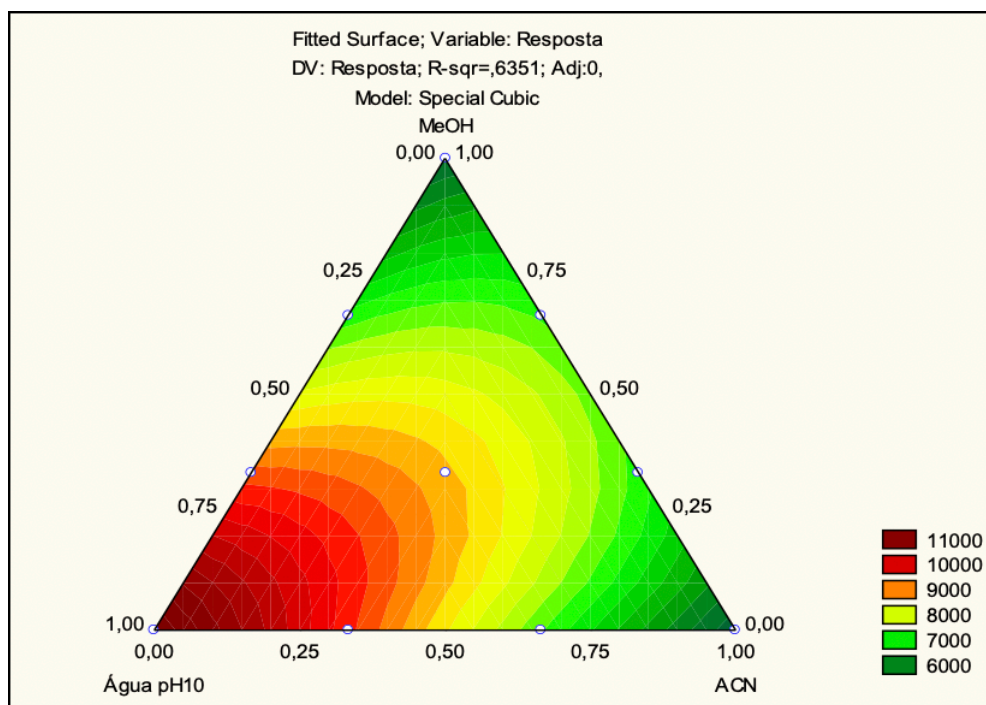


Tabela 1 – A: Tabela ANOVA do planejamento fatorial completo para cortiça como fase extratora.

ANOVA; Var.:Response; R-sqr =,98486; Adj:,.98486 2**(4-0) design; MS Residual =148872E4 DV: Response					
Factor	SS	df	MS	F	p
(1)Tempo	2,033998E+09	1	2,033998E+09	01,3663	0,295143
(2)pH	3,098424E+09	1	3,098424E+09	2,0813	0,208701
(3)Agitação	1,063044E+11	1	1,063044E+11	71,4068	0,000381
(4) Sal	2,614175E+11	1	2,614175E+01	175,5994	0,000044
1 by 2	1,846612E+08	1	1,846612E+08	0,1240	0,739051
1 by 3	5,137617E+08	1	5,137617E+08	0,3451	0,582424
1 by 4	1,810836E+08	1	1,810836E+08	0,1216	0,741471
2 by 3	6,661848E+9	1	6,6661848E+09	4,4749	0,088018
2 by 4	1,269779E+10	1	1,269779E+10	8,5294	0,032994
3 by 4	9,098508E+10	1	9,098508E+10	61,1165	0,000549
Error	7,443575E+09	5	1,488715E+09		
Total SS	4,915222E+11	15			

Figura 3 – A: Pareto obtido através da resposta do planejamento fatorial completo para C18 como fase extratora.

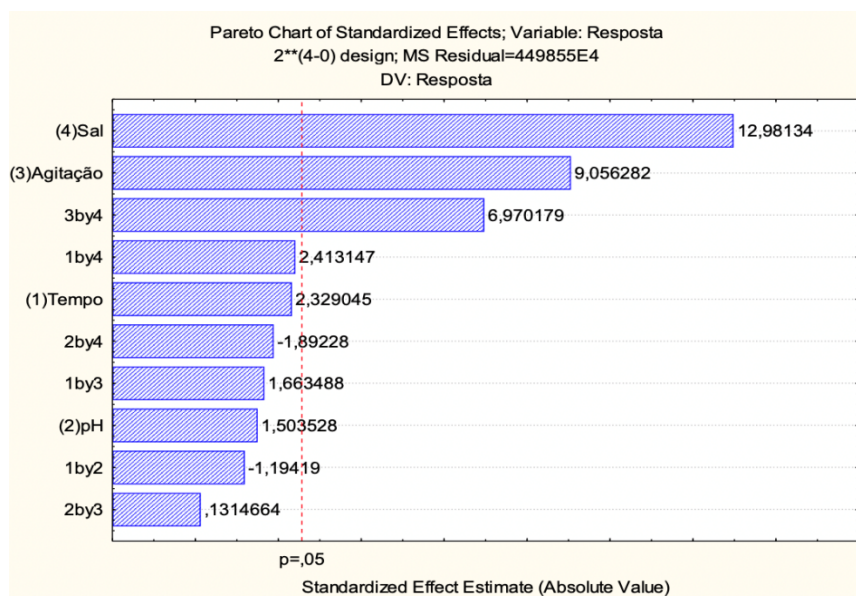


Tabela 2 – A: Tabela ANOVA do planejamento fatorial completo para C18 como fase extratora.

ANOVA; Var.:Response; R-sqr =,98463; Adj:,.9539 2**(4-0) design; MS Residual =449855E4 DV: Response					
Factor	SS	df	MS	F	p
(1) Tempo	2,440219E+10	1	2,440219E+10	5,4245	0,067291
(2)pH	1,016941E+10	1	1,016941E+10	2,2606	0,193027
(3)Agitação	3,689545E+11	1	3,689545E+11	82,0163	0,000274

(4) Sal	7,580749E+11	1	7,580749E+11	168,5153	0,000048
1 by 2	6,415354E+09	1	6,415354E+09	1,4261	0,285962
1 by 3	1,244835E+10	1	1,244835E+10	2,7672	0,157100
1 by 4	2,619632E+10	1	2,619632E+10	5,8233	0,060628
2 by 3	7,775040E+07	1	7,775040E+07	0,0173	0,900533
2 by 4	1,610807E+10	1	1,610807E+10	3,5807	0,117017
3 by 4	2,185550E+11	1	2,185550E+11	48,5834	0,000935
Error	2,249277E+10	5	4,498553E+09		
Total SS	1,463895E+12	15			

Figura 4 – A: Pareto obtido através da resposta do planejamento fatorial completo para Argila MMT-IL como fase extratora.

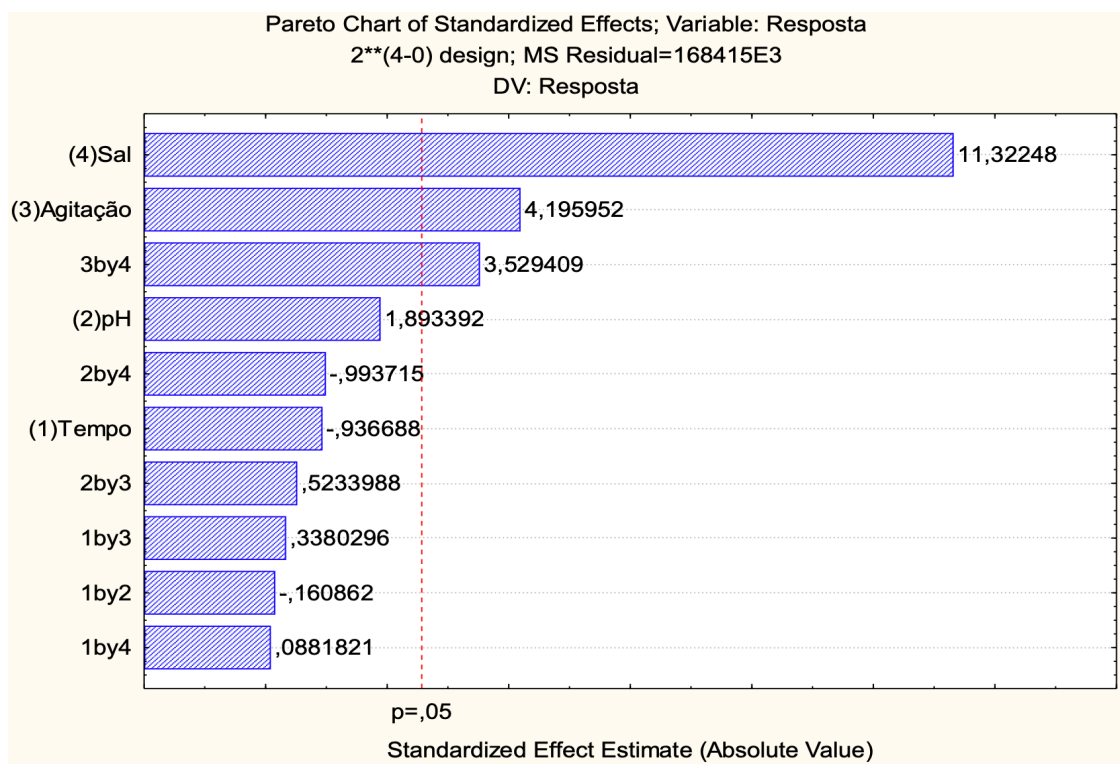


Tabela 3 – A: Tabela ANOVA do planejamento fatorial completo para Argila MMT-IL como fase extratora.

ANOVA; Var.:Response; R-sqr =,97044; Adj:,.91131					
2**(4-0) design; MS Residual =168415E3					
DV: Response					
Factor	SS	df	MS	F	p
(1) Tempo	1,477649E+08	1	1,477649E+08	0,8774	0,391920
(2)pH	6,037568E+08	1	6,037568E+08	3,5849	0,116850
(3)Agitação	2,965117E+09	1	2,965117E+09	17,6060	0,008523
(4) Sal	2,159057E+10	1	2,159057E+10	128,1986	0,000094
1 by 2	4,357985E+06	1	4,357985E+06	0,0259	0,878500
1 by 3	1,924378E+07	1	1,924378E+07	0,1143	0,749072
1 by 4	1,309610E+06	1	1,309610E+06	0,0078	0,933155
2 by 3	4,613667E+07	1	4,613667E+07	0,2739	0,62057
2 by 4	1,663047E+08	1	1,663047E+08	0,9875	0,365988

3 by 4	2,097900E+09	1	2,0997900E+09	12,4567	0,016750
Error	8,420752E+08	5	1,684150E+08		
Total SS	2,848454E+10	15			

9.3 APENDICE B

Tabela 1 – B: Tabela de razões m/x para a determinação de multirésíduos por GC-MS (valores em negrito foram usados para a quantificação dos analitos).

número	Analito	íons m/z
1	etilbenzeno	51/65/ 91 /106
2	<i>o</i> -xileno	91 /106/65
3	acenaftileno	152 /153/76
4	fluoreno	252 /126
5	trifluralina	264 /306/43
6	fenantreno	276/138/278/ 139
7	antraceno	166 /82/139
8	pendimetalina,	252 /162
9	2-etilhexil-p-dimetilaminobenzoato	254 /128/91
10	pireno	276 /138/278/139
11	3-(4-metilbenzilideno)cânfora	165 /105/148/277
12	benzo [a] antraceno	178 /76/89
13	criseno	252 /126
14	permetrina	183 /163
15	benz (e) acephenanthrylene	178 /76/89
16	benzo (k) fluoranteno	202 /101
17	benzo (a) pireno	228 /229
18	dibenzo (a, h) antraceno	252 /126
19	indeno [1,2,3-cd] pireno	276 /138/278/139
20	e benzo [ghi] perileno	228 /229

Tabela 2 – B: Frequências de absorção para os grupos funcionais constituinte da cortiça.

$\tilde{\nu}$ (cm ⁻¹)	Grupo de superfície/estrutura	Constituinte	Ref
3386	OH stretching	água, hemicelulose, celulose	(PINTOR et al., 2012) (GARCIA et al., 2014)
2920, 2851	CH ₃ aliphatic stretching	Suberina	(PINTOR et al., 2012)

			(GARCIA et al., 2014)
1735	C=O stretching	Suberina, hemicelulose, celulose	(PINTOR et al., 2012)
			(GARCIA et al., 2014)
1635, 1508	C=C stretching	Suberina, lignina, extractivos	(GARCIA et al., 2014)
1464	CH asymmetric deformation	Lignina	(GARCIA et al., 2014)
1464	δ sCH ₂	Grupos alifáticos da suberina (fingerprint)	(PINTOR et al., 2012)
1366	CH symmetric deformation	Extrativos	(GARCIA et al., 2014)
1366	δ sCH ₃	Suberina (fingerprint)	(PINTOR et al., 2012)
1242	CO stretching	Suberina, hemicelulose, celulose, lignina	(GARCIA et al., 2014)
1158	CO asymmetric deformation	Suberina, hemicelulose, celulose, lignina	(GARCIA et al., 2014)
1158	$\nu_{as}COC$	Suberina (fingerprint)	(PINTOR et al., 2012)
1094	CH deformation	Hemicelulose, celulose	(GARCIA et al., 2014)
1094	δ CH	Polissacarídeos	(GARCIA et al., 2014)
1033	CO deformation	Hemicelulose, celulose	(GARCIA et al., 2014)
1033	δ CO	Polissacarídeos	(PINTOR et al., 2012)
722	τ CH (oop)	Suberina	(PINTOR et al., 2012)

Evento referente à análise termogravimétrica.			
Evento	T _{onset} / °C	T _{endset} / °C	%Perda de massa
1	19.72	78.32	-1.95
2	255.81	351.54	-19.72
3	381.67	468.85	-55.70

Tabela 3 – B: Tabela ANOVA do planejamento fatorial completo para determinação de multiresíduos por GC-MS.

ANOVA; Var.:Response; R-sqr =,93697; Adj:.,55877					
2**(3-0) design; MS Residual =119592E4					
DV: Response					
Factor	SS	df	MS	F	p
(1)Time	1,078143E+09	1	1,078143E+09	0,901517	0,516493
(2)pH	1,375566E+09	1	1,375566E+09	1,150215	0,477745
(3)salt	1,113535E+10	1	1,113636E+10	9,311113	0,201610
1 by 2	3,213870E+09	1	3,213870E+09	2,687361	0,348707
1 by 3	1,021685E+08	1	1,021685E+08	0,085431	0,818968
2 by 3	8,719349E+08	1	8,719349E+08	0,729091	0,5500078
Error	1,195921E+09	1	1,195921E+09		
Total SS	1,897295E+10	7			

9.4 APENCICE C

Tabela 1 – C: Tabela de razões m/z para a determinação de pesticidas por GC-MS (valores em negrito foram usados para a quantificação dos analitos).

<i>número</i>	<i>Analitos</i>	<i>íons m/z</i>
1	Carbofurano	164/149/122/131
2	Molinato	126/56/55/41
3	Trifluralina	264/306/43
4	Atrazina	200/215/173/58
5	Tebuconazol	125/70/250/127

Tabela 2 – C: Tabela ANOVA do planejamento Doehlert para determinação de multiresíduos por GC-MS

ANOVA; Var.:Response; R-sqr =,86957; Adj:.,65219 2 factors, 1 blocks, 9 run; Residual =1205411 DV: Var3					
Fator	SS	df	MS	F	p
(1)Sal (%) (L)	1561716	1	1561716	12,95617	0,036776
Sal (%) (Q)	6010	1	6010	0,00499	0,948153
(2)Tempo (min) (L)	8112516	1	8112516	6,73008	0,08077
Tempo (min) (L)	222389	1	222389	0,18449	0,696521
1L by 2L	156709	1	156709	0,13000	0,742320
Error	3616234	3	1205411		
Total SS	27725658	8			