



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS FÍSICAS E MATEMÁTICAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

**DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS USADOS COMO
FILTROS ULTRAVIOLETAS EM AMOSTRAS DE ÁGUA POR
GC-MS EMPREGANDO MICROEXTRAÇÃO EM FASE
SÓLIDA COM CORTIÇA COMO BIOSSORVENTE**

ANA CRISTINE DA SILVA

Florianópolis
Julho/2016

Ana Cristine da Silva

**DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS USADOS COMO FILTROS
ULTRAVIOLETAS EM AMOSTRAS DE ÁGUA
POR GC-MS EMPREGANDO MICROEXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA
COM CORTIÇA COMO BIORSORVENTE**

Relatório apresentado ao Departamento de Química
da Universidade Federal de Santa Catarina,
como requisito parcial da disciplina de
Estágio Supervisionado II (QMC 5512)

Orientador: Prof^o Dr. Eduardo Carasek da Rocha
Coorientador: Dra. Adriana Neves Dias

Florianópolis
Julho/2016

Ana Cristine da Silva

**DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS USADOS COMO FILTROS
ULTRAVIOLETAS EM AMOSTRAS DE ÁGUA
POR GC-MS EMPREGANDO MICROEXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA
COM CORTIÇA COMO BIORSORVENTE**

Prof. Dr. Alexandre Luis Parize
Coordenador de Estágio do Curso de Química-Bacharelado

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Eduardo Carasek, da Rocha
Orientador

Prof. Dr. Gustavo Amadeu Micke

Dra. Jessee Severo

Florianópolis
Julho/2016

Este trabalho é dedicado aos meus pais, Waldir e Anabel, às minhas irmãs Ana Caroline e Luana, e ao meu sobrinho e afilhado Miguel Pedro.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, gostaria de agradecer a Deus pelo dom da vida, por nunca desistir de mim e estar sempre iluminando meus passos. E também, pela família maravilhosa que tenho, que me dá todo suporte que necessito.

Quero agradecer aos meus pais, Waldir e Anabel, por todo apoio emocional, financeiro e moral. Obrigada por abraçarem essa ideia e me fazer persistir na realização dos meus sonhos. Vocês são meu amor maior.

Às minhas irmãs, Ana Caroline e Luana, que me aturaram nos piores dias e mesmo assim não desistiram de mim. Por estarem ao meu lado, incentivando e ajudando nos momentos mais duvidosos. E também, por me trazerem para a família duas pessoas muito especiais, Marlon e Evandro, que são como irmãos mais velhos para mim e como tal, sempre me apoiaram nessa empreitada.

Aos sobrinhos/afilhados, Natalia, Amanda e Miguel, vocês são meu motivo de orgulho, meu incentivo e motivação.

Agradeço ao meu orientador, Eduardo Carasek, pela oportunidade de trabalho como iniciação científica no laboratório CROMAAS, por sua orientação, não só no desenvolvimento deste trabalho, mas também no decorrer da vida acadêmica. Muito obrigada.

À minha coorientadora e amiga de laboratório, Adriana, pela paciência, pelo incentivo, conversas, aprendizagens, ajuda, risadas e até mesmo pelas discussões. Você me fez crescer, amadurecer e principalmente, seguir em frente, aprendendo sempre mais.

Aos meus colegas do laboratório CROMAAS, obrigada por compartilharem seus conhecimentos, por ceder um pouquinho de seu tempo para ensinar, aconselhar e ajudar. Com certeza vocês nos dão um ânimo para continuar nessa caminhada.

Aos amigos queridos, Lucas Morés, Lucas Murara, Joseane, Francielle e Anderson, vocês tornam meus dias melhores e mais felizes. Sou grata a Deus por ter colocado vocês em minha vida. Saibam que quando precisar, estarei aqui como vocês sempre estiveram por mim.

Aos familiares, que mesmo longe se fizeram presente, que perguntam por mim e me querem bem. Sei que muitos estavam torcendo e acompanhando esse grande passo na minha vida. A vocês, muito obrigada.

À minha querida professora de química do ensino médio, Maristela Grawe, pois foi ela quem despertou em mim o interesse pela química. Obrigada por me mostrar o quanto esse mundo da ciência, apesar de todos os desafios, pode ser explêndido.

À família EPC, da qual faço parte a pouco tempo, mas que já é muito importante para mim, por ter me proporcionado o melhor final de semana da minha vida, cercado de pessoas maravilhosas como o propósito único de conhecer ainda mais sobre o caminho de Deus.

Aos colegas que, de alguma forma, fizeram esses cinco anos mais leves e descontraídos e que deram suporte quando precisei, vocês são luz na minha vida.

À UFSC, pelo espaço físico concedido e pela formação dada a mim. Aos professores que compartilharam seus conhecimentos, e colaboraram para a minha formação.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
2. REVISÃO DA LITERATURA	13
2.1. Compostos utilizados como filtros UV	13
2.2. Cortiça	15
2.3 Preparo de Amostra.....	17
2.4 Microextração em fase sólida.....	18
2.5 Cromatografia gasosa.....	21
3. OBJETIVOS.....	24
3.1 Objetivo Geral	24
3.2 Objetivos específicos	24
4. MATERIAIS E MÉTODOS	25
4.1. Materiais e Reagentes.....	25
4.2. Instrumentação	25
4.2.1 Cromatografia e condições cromatográficas	25
4.2.2 Microextração em fase sólida	26
4.2.3 Padrões	26
4.3. Preparo das soluções.....	26
4.4. Preparo da fibra	26
4.6 Parâmetros otimizados	28
4.7 Amostra	28
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
5.1 Otimização dos parâmetros cromatográficos.....	29
5.1.1 Tempo de retenção	29
5.2 Otimização dos parâmetros de extração	30
5.2.1 Otimização multivariada	30
5.2.2 Otimização univariada	31
5.3 Figuras de mérito.....	32
5.4 Comparação com fibras comerciais	34
5.5 Comparação na eficiência de extração utilizando fibras produzidas por diferentes analistas	35
5.6 Comparação de estudos descritos na literatura.....	35
6. CONCLUSÃO	38
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	39

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 Alguns compostos utilizados como filtros UV.....	13
FIGURA 2 Espectro de infravermelho da cortiça modificada a 260 °C.....	16
FIGURA 3 Micrografias obtidas através Microscopia eletrônica de varredura (A) magnificação de 100x e (B) magnificação de 400x.....	17
FIGURA 4 (A) Aplicador para injeção manual (<i>holder</i>) e fibra comercial (B) Fibra colocada no aplicador mantida na posição recolhida (dentro da agulha) (C) Fibra colocada no aplicador mantida na posição exposta (fora da agulha).....	18
FIGURA 5 Modos de extração. (A) Imersão direta, (B) headspace.....	19
FIGURA 6 Esquema simplificado de um cromatógrafo a gás.....	21
FIGURA 7 Esquema de um instrumento de GC-MS.....	23
FIGURA 8 Esquema do procedimento de produção das fibras de cortiça.....	27
FIGURA 9 Cromatograma obtido à partir da injeção direta da mistura de 4-MBC e OD-PABA, 100 mg/L em metanol.....	29
FIGURA 10 Superfícies de resposta obtidas através do planejamento composto central e das médias geométricas das áreas cromatográficas considerando os dois analitos estudados.....	31
FIGURA 11 Gráfico de barras obtido a partir da otimização do pH.....	32
FIGURA 12 Cromatogramas obtidos através da extração por DI-SPME com a fibra de cortiça da amostra de rio não fortificada e da amostra de rio fortificada com os analitos (0,4 µg/L de 4-MBC e 0,04 µg/L de OD-PABA).....	33

FIGURA 13 Gráfico de barras obtido através da comparação na eficiência de extração utilizando fibras comerciais.....34

FIGURA 14 Gráfico de barras obtido através da comparação na eficiência de extração utilizando fibras produzidas por diferentes analistas.....35

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 Compostos utilizados como filtros ultravioletas aprovados pela FDA...	14
TABELA 2 Planejamento composto central empregado para otimização dos parâmetros que afetam a extração de compostos utilizados como filtros UV em amostras de água por DI-SPME com fibra de cortiça.....	28
TABELA 3 Parâmetros de mérito para o método desenvolvido.....	28
TABELA 4 Resultados de precisão e exatidão do método.....	32
TABELA 5 Comparação entre estudos descritos na literatura e o método proposto, empregando fibra de cortiça na determinação de compostos utilizados como filtros UV em amostras aquosas.....	36

LISTA DE ABREVIATURAS

4 – MBC – 3 - (4 - metilbenzilideno) cânfora

DI - Imersão direta, *do inglês Direct Immersion*

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

DVB - Divinilbenzeno

FDA – Administração de Alimentos e Medicamentos, *do inglês Food and Drug Administration*

GC – Cromatografia Gasosa, *do inglês Gas Chromatography*

HS - *do inglês Headspace*

MS – Espectrometria de Massas, *do inglês Mass Spectrometry*

NiTi - Níquel/Titânio

OD-PABA – 2-etilhexil 4-(dimetilamino) benzoato

PDMS – Polidimetilsiloxano

RSD(%) - Desvio Padrão Relativo, *do inglês relative standard deviation*

SPF – Fator de proteção solar, *do inglês Sun Protection Factor*

SPME – Microextração em fase sólida, *do inglês Solid Phase Microextraction*

UV – Ultravioleta, *do inglês ultraviolet*

RESUMO

Neste estudo foi desenvolvido um método para determinação de compostos utilizados como filtros ultravioleta em amostras aquosas empregando microextração em fase sólida (SPME) e cromatografia gasosa. Primeiramente, otimizou-se o pH para a extração dos analitos. Após, foi realizado o planejamento composto central para otimização das condições de extração. As condições ótimas de extração foram 70 min de extração a 80 °C e adição de 6% de NaCl em solução com pH ácido em torno de 4,2. O método desenvolvido se mostrou eficiente para a extração dessa classe de compostos com a utilização da fibra de cortiça onde os limites de quantificação foram de 0,1 µg/L para o 3 - (4 - metilbenzilideno) cânfora (4-MBC) e 0,01 µg/L para o 2-etilhexil 4-(dimetilamino) benzoato (OD-PABA). Os valores de recuperação variaram entre 107 a 117% para o 4-MBC e entre 67 a 107% para o OD-PABA e os valores de RSD \leq 18% (n = 3). As faixas lineares foram de 0,1 a 0,5 µg/L (4 – MBC) e 0,01 a 0,05 µg/L (OD-PABA) com $r^2 \geq 0,9782$. O método foi aplicado em uma amostra de água de rio, coletada no distrito de Pirabeiraba, município de Joinville, onde não foram detectados os analitos no branco da amostra.

Palavras-chave: Cortiça, Biossorvente, SPME, Cromatografia Gasosa, Filtros UV

1. INTRODUÇÃO

Atualmente os buracos da camada de ozônio estão cada vez maiores, os Estados Unidos, a maior parte da Europa, o norte da China e o Japão já perderam 6% da proteção de ozônio, como consequência, houve um aumento na exposição aos raios solares que podem causar malefícios à saúde, tais como fotossensibilidade, envelhecimento precoce e até mesmo câncer de pele. O Programa das Nações Unidas para o Meio Ambiente (PNUMA) calcula que cada 1% de perda da camada de ozônio cause 50 mil novos casos de câncer de pele e 100 mil novos casos de cegueira, causados por catarata, em todo o mundo. Para a prevenção destes malefícios houve um crescimento na utilização de bloqueadores solares e outros produtos que contenham filtros solares, tais como xampu, cremes faciais e maquiagens. O acúmulo de tais substâncias se tornou um problema, pois estes podem estar presentes em lagos, estuários, balneários, rios ou ainda vir do próprio banho já que ainda não há tecnologia para remoção de fármacos e cosméticos do esgoto doméstico.

Dessa maneira, surge o interesse no desenvolvimento de metodologias para determinação de compostos utilizados como filtros ultravioleta em diversas matrizes. Dentre as técnicas de preparo de amostras a microextração em fase sólida (SPME, do inglês *Solid-Phase Microextraction*) vem se destacando pela sua eficiência de extração e pelas suas características de química analítica verde. A fim de aumentar tais características na SPME o uso de materiais biossorbentes, tal como a cortiça, tem sido estudado em nosso grupo de pesquisas. A cortiça é um material de origem natural, renovável e biodegradável e ao mesmo tempo tem se mostrado um bom extrator para a técnica de microextração em fase sólida.

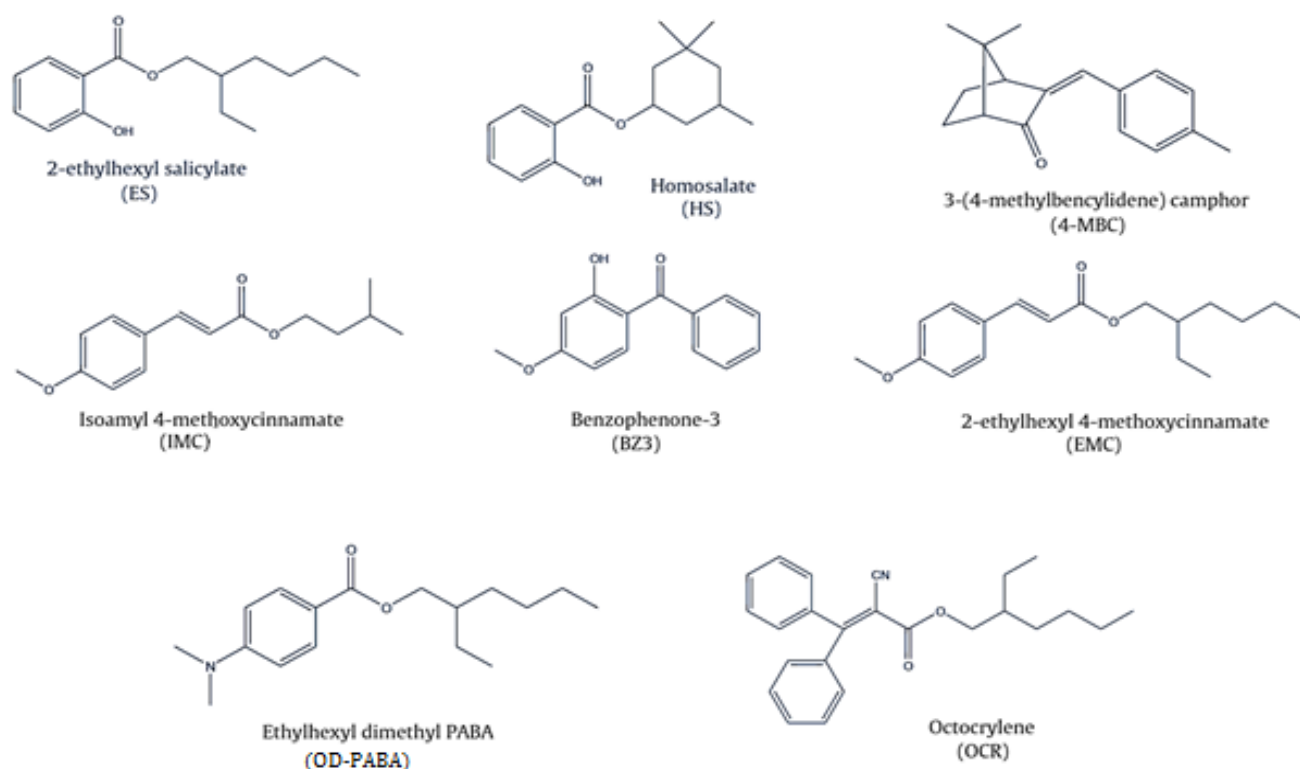
Então, o propósito deste trabalho consiste no desenvolvimento de uma nova metodologia para extração eficiente de compostos utilizados como filtros ultravioleta, empregando a cortiça como biossorvente na técnica de microextração em fase sólida associada a cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas como método de separação e detecção dos compostos.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. Compostos utilizados como filtros UV

Muitos produtos comerciais como cosméticos, produtos de higiene pessoal, bloqueadores e protetores solares são constituídos por compostos utilizados como filtros UV, que são substâncias capazes de absorver ou refletir raios solares¹. Estas substâncias (Figura 1) são produzidas e utilizadas em larga escala (10.000 toneladas anualmente) em produtos de cuidados pessoais, bem como em muitos produtos industriais para proteger os produtos da fotodegradação^{2,3}.

Figura 1: Alguns compostos utilizados como filtros UV.



Fonte: Adaptado de BENEDE⁵ *et al.* (2014)⁵

Os filtros solares podem ser classificados de duas maneiras, agentes orgânicos (UVA e UVB) ou inorgânicos, o primeiro é relacionado à absorção dos raios solares e o segundo está relacionado à refletância dos mesmos⁴. Os agentes orgânicos e inorgânicos podem agir simultaneamente para aumentar o fator de proteção solar (SPF, *do inglês Sun Protection Factor*). Os principais agentes inorgânicos utilizados são óxido de zinco e dióxido de titânio, segundo a FDA

(Administração de Alimentos e Medicamentos, do inglês *Food and Drug Administration*), como pode ser visto na Tabela 1, esses agentes são considerados fotoestáveis. O óxido de zinco oferece melhor proteção UVA, enquanto que o dióxido de titânio fornece proteção UVB, estes compostos tem uma tonalidade mais branca devido ao seu elevado índice de refração⁴.

Tabela 1: Compostos utilizados como filtros ultravioletas aprovados pela FDA

Compostos utilizados como filtros solares aprovados pela FDA	Concentração máxima aprovada pela FDA (%)	Comprimento de onda de absorção de pico	Faixa de proteção (nm)	Proteção
<i>Agentes Inorgânicos</i>				
Dióxido de Titânio	25.0	Varia	290-350	UVB, UVA2
Óxido de Zinco	25.0	Varia	290-400	UVB, UVA1
<i>Agentes Orgânicos UVB</i>				
PABA	15.0	283	260-313	
Padimato O	8.0	311	290-315	
Octil metoxicinamatos	7.5	311	280-310	
Cinoxate	3.0	290	270-328	
Octil salicilato	5.0	307	260-310	UVB
Homosalato	15.0	306	290-315	
Salicilato de trolamina	12.0	260-355	269-350	
Octacrileno	10.0	303	287-323	
Ensulizole	4.0	310	290-340	
<i>Agentes Orgânicos UVA</i>				
Oxibenzona	6.0	290, 325	270-350	UVB, UVA2
Sulisobenzone	10.0	366	250-380	UVB, UVA2
Dioxibenzona	3.0	352	206-380	UVB, UVA2
Meradimate	5.0	336	200-380	UVA2
Avobenzone	3.0	360	310-400	UVA1, UVA2
Ecamsule	10.0	345	295-390	UVA1, UVA2

Fonte: Adaptado de SAMBANDAN, 2011.⁴

Devido ao crescente uso destes produtos, os filtros UV atingiram os ambientes aquáticos de forma direta (banhos de mar ou tomar sol) e/ou indireta (estações de tratamento de esgoto e águas residuais). Em virtude das propriedades lipofílicas destas substâncias, estas podem estar acumuladas em partículas suspensas contidas na água, sedimentos ou lodo. Mesmo apresentando este caráter

lipofílico, estas substâncias podem ser encontradas em amostras aquosas¹. Diversos estudos demonstram que os compostos utilizados como filtros UV, mesmo em nível traço, podem causar perturbações hormonais na reprodução dos peixes pois possuem atividade endócrina. Por isso, estes compostos estão sendo classificados como contaminantes emergentes, pois ainda não há legislação que estabeleça limites máximos de resíduos para os mesmos⁵.

Há uma grande quantidade de substâncias que possuem propriedades para atuar como filtros solares, os mais utilizados são os compostos orgânicos como as benzofenonas, cinamatos e canforados. Dentre estes, os mais comuns são o 3 - (4 - metilbenzilideno) cânfora (4-MBC) e a benzofenona – 3 (BP-3)².

Estas substâncias, como dito anteriormente, constituem um grupo de poluentes ambientais emergentes que vem recebendo crescente atenção nas últimas décadas pois muito tem se falado acerca dos efeitos negativos da radiação solar³. Os raios UVB (280 – 320 nm) estão associados à indução do eritema e aos danos diretos no DNA através da formação do dímero pirimidina, enquanto os raios UVA (320 – 400 nm) estão associados com o bronzeamento e fotoenvelhecimento⁴.

2.2. Cortiça

Existem muitos materiais encontrados no ambiente formados por macromoléculas contendo vários grupos funcionais que são capazes de interagir com contaminantes através de diferentes fenômenos como adsorção química, complexação e troca iônica. Materiais como a cortiça apresentam estas características e são conhecidos como bioissorventes⁶. A cortiça é a casca do sobreiro (*Quercus suber* L.), e é uma matéria-prima natural, renovável e biodegradável. Este bioissorvente tem uma estrutura celular alveolar semelhante à do favo de mel⁷, e as suas células são constituídas principalmente dos biopolímeros hidrofóbicos, suberina (40%) e lignina (24%), ceras e outros produtos (15%) e ainda, polissacarídeos (20%) (celulose e hemicelulose) que conferem um caráter hidrófilo a este bioissorvente^{8,9}. Esta composição tem uma forte influência sobre as propriedades mecânicas⁷.

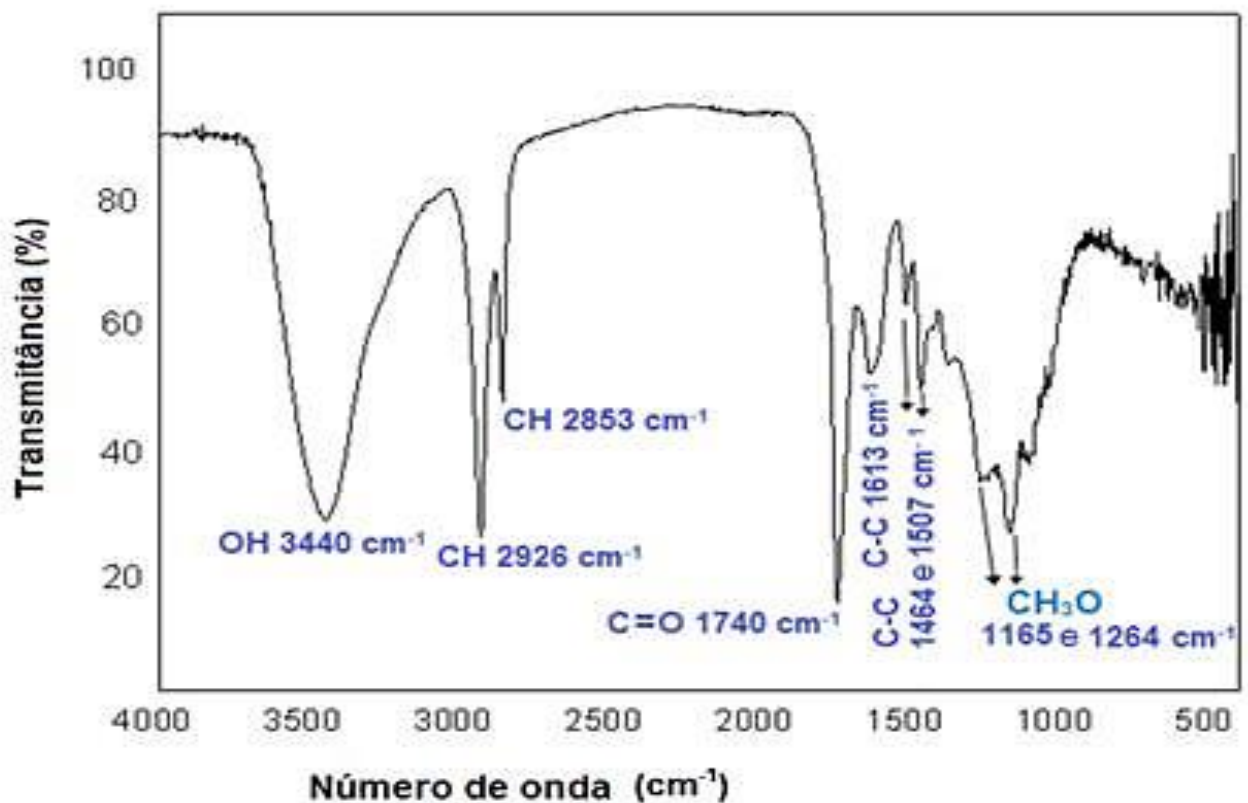
A cortiça é um produto natural, orgânico e leve, com elevada estabilidade dimensional. Quando é aplicada alta temperatura, os grânulos de cortiça ficam cobertos por suberina e ceras que podem ficar depositadas em sua superfície.

Contudo, a cortiça tratada termicamente mantém algumas das vantagens proporcionadas pela cortiça natural, bem como isolamento térmico, baixa absorção de água e resistência química⁷.

Segundo estudos de degradação térmica, 90% dos polissacarídeos são degradados a 250 °C e em temperaturas mais altas, estes compostos são totalmente degradados¹⁰. A decomposição parcial da suberina e de ceras e outros extrativos são decompostos a uma temperatura de 200°C, a lignina, no entanto, inicia sua decomposição entre 250 e 300 °C⁹.

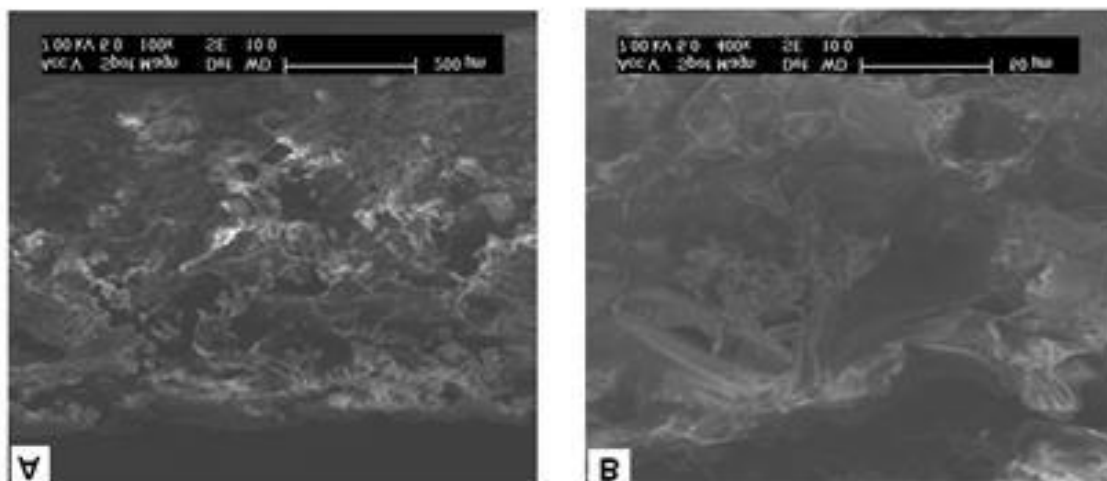
Para identificar grupos funcionais presentes na cortiça tratada termicamente, em um estudo anterior, foi obtido um espectro de infravermelho (Figura 2) e através da microscopia eletrônica de varredura (Figura 3), é possível visualizar a porosidade da cortiça onde os analitos serão sorvidos¹¹.

Figura 2: Espectro de infravermelho da cortiça modificada a 260 °C.



Fonte: DIAS, 2015.¹¹

Figura 3: Micrografias obtidas através Microscopia eletrônica de varredura (A) magnificação de 100x e (B) magnificação de 400x.



Fonte: DIAS, 2015.¹¹

Este biossorvente tem outras propriedades importantes, além de ser um produto natural e ecológico, não libera vapores nocivos ou odores e é um material que permanece inalterado enquanto mantém a sua eficácia durante longos períodos de tempo⁶. A utilização de cortiça como recobrimento para fibras de SPME foi avaliada anteriormente para extração de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, agrotóxicos organoclorados em amostras de água de rio e os resultados foram satisfatórios^{12,13,14}.

2.3 Preparo de Amostra

Mesmo com todos os avanços tecnológicos, na maioria dos casos, ainda não é possível analisar diretamente amostras complexas, como consequência, necessita-se de ao menos uma etapa de preparo de amostra antes da análise instrumental. O principal objetivo do preparo de amostra é extrair e concentrar os analitos e torná-los compatíveis ao instrumento analítico¹⁵.

O preparo de amostra é um processo dependente do analito e da matriz, logo, requer a otimização de diferentes parâmetros que podem influenciar na extração¹⁶. Com a crescente preocupação ambiental e a busca da química verde, houve a introdução de técnicas de preparo de amostra mais modernas que seguem a tendência de miniaturização, automação e isentas de solvente¹⁷.

As pesquisas relacionadas com o preparo de amostra estão na constante busca de metodologias analíticas ideais, principalmente para analitos em concentrações traço de amostras complexas, pois nestes casos necessitam-se muitas etapas, como extração do analito da matriz, limpeza e pré-concentração, que são conduzidas a fim de conseguir a sensibilidade adequada para um determinado método analítico. Logo, são desenvolvidos métodos cada vez mais simples e rápidos, a fim de diminuir os erros associados a cada etapa do processo, levando em conta que a quantidade de incerteza num método está diretamente relacionada ao número de etapas que ele contém¹⁸.

2.4 Microextração em fase sólida

SPME (*Solid Phase Microextraction* – Microextração em fase sólida) é uma técnica de preparo de amostra livre de solventes e não exaustiva, onde não é necessário conhecer a quantidade de analito extraída, por conseguinte, a fibra pode ser exposta diretamente no injetor para dessorção dos analitos e posteriormente, é realizada sua quantificação. Este processo facilita separações rápidas e bandas nítidas¹⁹. O princípio básico é a utilização de uma pequena quantidade de fase extratora, geralmente menor que 1 μL ¹⁹. A microextração em fase sólida é utilizada principalmente para extração de compostos voláteis e semi-voláteis. Nesta técnica geralmente faz-se uso de uma fibra de sílica fundida (Figura 4A) com cerca de 10 a 100 μm de espessura de uma camada polimérica²⁰.

Figura 4: (A) Fibra comercial e aplicador para injeção manual (*holder*) (B) Fibra colocada no aplicador mantida na posição recolhida (dentro da agulha) (C) Fibra colocada no aplicador mantida na posição exposta (fora da agulha).

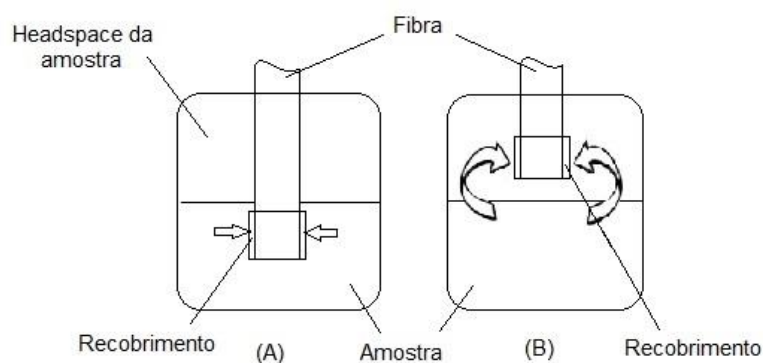


Fonte: Autoria própria (2016)

A fibra se encontra acondicionada dentro de uma agulha em um amostrador (*holder*) (Figura 4A), já que o dispositivo da fibra não pode ser manipulado diretamente. No corpo do amostrador existe uma fenda em forma de Z, que serve para expor (Figura 4C) ou retrair (Figura 4B) a fibra do tubo hipodérmico.

A extração através da SPME pode ser feita de dois modos diferentes (Figura 5): imersão direta (DI) e *headspace* (HS). O modo HS é utilizado para compostos com alta volatilidade, ou também para matrizes que contém algum material particulado. Já o modo DI é utilizado para compostos com menor volatilidade, normalmente em amostras aquosas sem nenhum particulado²¹.

Figura 5: Modos de extração. (A) Imersão direta, (B) headspace



Fonte: Adaptado de PAWLISZYN, 2000. ¹⁹

Devido à técnica de SPME ser não exaustiva (apenas uma pequena porção do analito é extraída da matriz), a quantificação é realizada em condições de equilíbrio ou pré-equilíbrio. Para cada modo de extração empregado, há um sistema de equilíbrio¹¹.

Neste trabalho, foi utilizado o modo de extração por imersão direta, que é considerado como um sistema bifásico para facilitar os tratamentos matemáticos, então o processo de extração é considerado completo quando a concentração do analito atinge o equilíbrio entre a amostra e a fibra.

Para o modo de extração utilizado e de acordo com a equação (1), o coeficiente de distribuição (K_{fs}) do analito entre o recobrimento da fibra e a amostra é definido como:

$$Conc_{amostra} \rightleftharpoons Conc_{fibra} \quad K_{fs} = \frac{C_f^{\infty}}{C_s^{\infty}} \quad (1)$$

As condições de equilíbrio, conforme a lei de conservação das massas, para o sistema de imersão direta, são descritas na equação (2).

$$C_0 \cdot V_s = C_s^\infty \cdot V_s + C_f^\infty \cdot V_f \quad (2)$$

Onde:

C_0 = Concentração inicial do analito

V_s = Volume da amostra

C_s^∞ = Concentração, no equilíbrio, do analito na amostra

C_f^∞ = concentração, no equilíbrio, do analito no recobrimento da fibra

V_f = volume do recobrimento da fibra

Rearranjando matematicamente as equações (1) e (2), determina-se a equação (3) e com esta, é possível calcular a concentração do analito extraído pelo recobrimento (C_f^∞), no equilíbrio.

$$C_f^\infty = C_0 \cdot \frac{K_{fs} \cdot V_s}{K_{fs} \cdot V_f + V_s} \quad (3)$$

A equação (4) relaciona a concentração, no equilíbrio, do analito no recobrimento da fibra (C_f^∞) com o número de mols de analito extraído pelo recobrimento no equilíbrio (n_f).

$$C_f^\infty = \frac{n_f}{V_f} \quad (4)$$

Através do rearranjo das equações (3) e (4), obtém-se a equação (5) com a qual é possível calcular o número de mols de analito extraído pelo recobrimento no equilíbrio (n_f).

$$n_f = C_0 \cdot \frac{K_{fs} \cdot V_s \cdot V_f}{K_{fs} \cdot V_f + V_s} \quad (5)$$

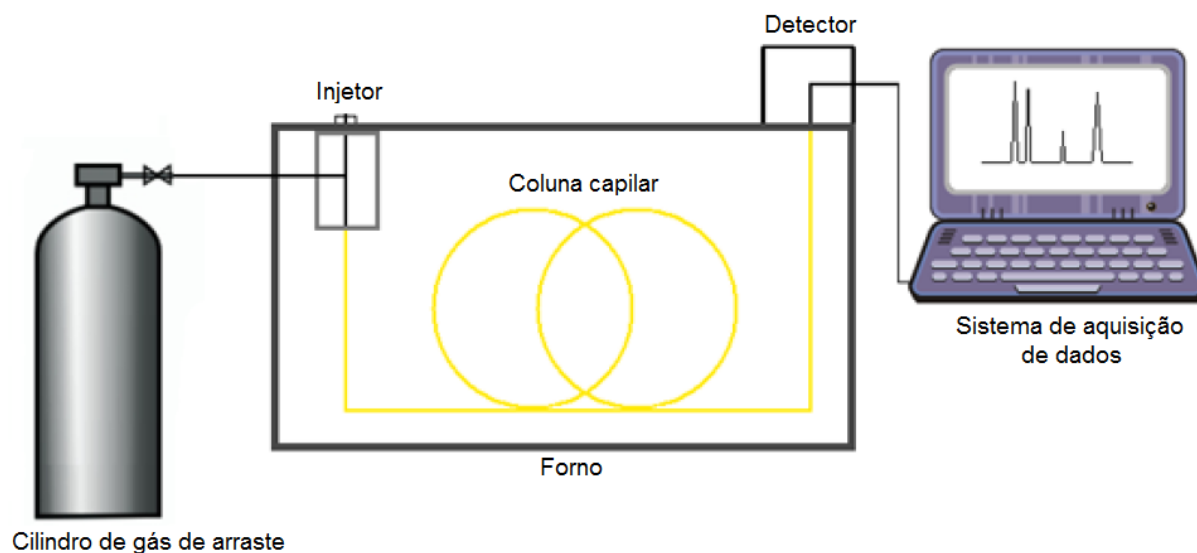
Esta técnica tem sido muito utilizada, principalmente associada a análise por cromatografia gasosa (GC, *do inglês Gas Chromatography*)

2.5 Cromatografia gasosa

A cromatografia gasosa é uma das técnicas mais empregadas em análises quantitativas e qualitativas. Nesta técnica os componentes de uma amostra vaporizada são separados em consequência de sua partição entre uma fase móvel gasosa e inerte (não interage com o analito) e uma fase estacionária contida dentro da coluna²². A separação dos analitos é resultante da diferença de velocidade dos componentes arrastados pela fase móvel, que é gerada devido as diferentes interações com a fase estacionária, promovendo distribuições diferenciadas no equilíbrio entre ambas as fases. A temperatura tem um papel determinante na migração dos analitos, visto que o carregamento dos mesmos através da coluna cromatográfica pode ser dificultado ou facilitado²³.

Um cromatógrafo a gás tem como constituintes básicos um injetor, uma coluna cromatográfica, que fica instalada dentro de um forno, e um detector. Todos eles controlados por um *software* adequado. Na Figura 6 é possível visualizar um esquema simplificado do sistema de cromatografia gasosa²³.

Figura 6: Esquema simplificado de um cromatógrafo a gás.



Fonte: Adaptado de NENG, 2011.²³

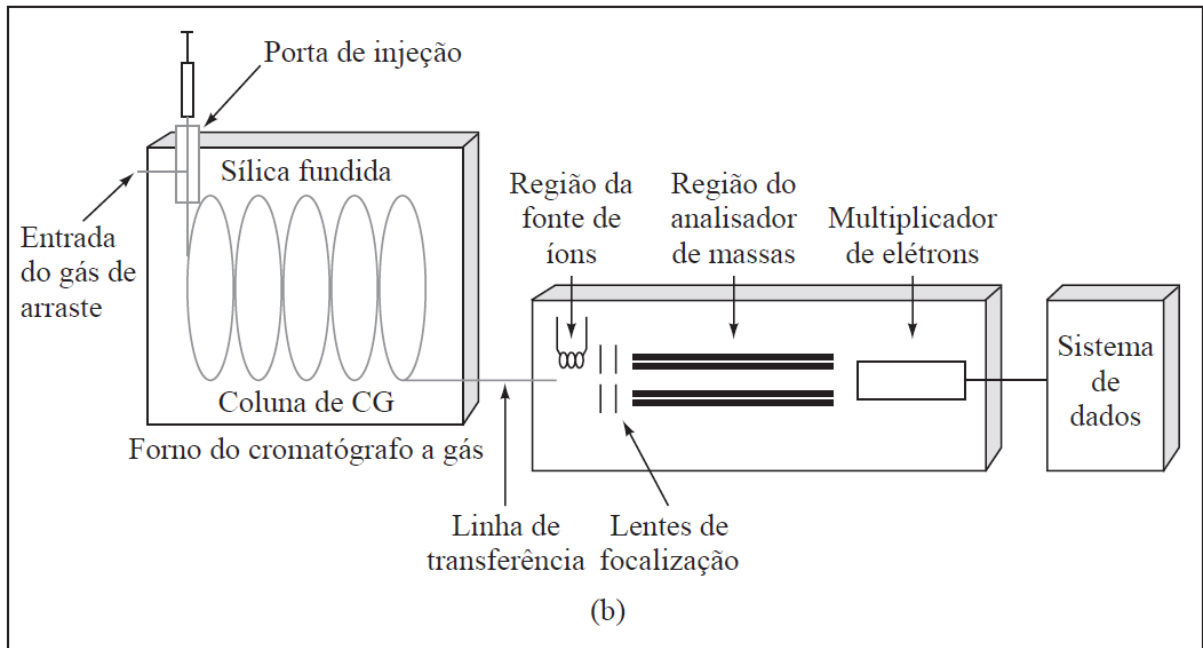
O sistema de um cromatógrafo a gás opera da seguinte forma: a amostra inserida no injetor, onde é vaporizada a uma alta temperatura, então é carregada pelo

gás de arraste (ou fase móvel) através de uma coluna capilar, que fica dentro de um forno termostaticado, até o detector onde o sinal analógico é convertido em sinal digital. O gás de arraste deve ser quimicamente inerte, ou seja, não deve interagir com a amostra, e os principais gases de arraste utilizados são nitrogênio, hélio e hidrogênio. O fluxo do gás de arraste é cuidadosamente controlado para obter tempos de retenção reproduzíveis e para minimizar o ruído do sistema²⁰.

Para ser considerado ideal, um detector tem de ter determinadas características como:

- Sensibilidade adequada (na faixa de 10^{-8} a 10^{-15} g do soluto/s)
- Boa estabilidade e reprodutibilidade
- Resposta linear aos solutos
- Ampla faixa de temperatura
- Tempo de resposta curto e independente da vazão
- Alta confiabilidade e facilidade de uso
- Similaridade de resposta
- Não deve destruir a amostra

Obviamente, não há no mercado nenhum detector que apresente todas essas características¹⁴. Dentre os mais comumente utilizados, a espectrometria de massas (Figura 7) é o modo de detecção mais poderoso. Um espectrômetro de massas mede a razão massa/carga (m/z) de íons que são produzidos pela amostra, no espectrômetro de massas, as moléculas da amostra entram em uma fonte de ionização, onde são ionizadas. As fontes de ionização para a espectrometria de massa molecular são energéticas o suficiente para quebrar as ligações químicas das moléculas da amostra, mas não suficientemente energéticas para decompor as moléculas da amostra em seus átomos constituintes, assim como acontece em espectrometria atômica²².

Figura 7: Esquema de um instrumento de GC-MS.

Fonte: SKOOG, 2006. ²²

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

O presente trabalho teve por principal objetivo desenvolver uma metodologia analítica utilizando a cortiça como bioissorvente em SPME para extração de compostos usados como filtros UV em amostras aquosas.

3.2 Objetivos específicos

- Preparo da fibra de SPME com recobrimento de cortiça;
- Otimização das variáveis operacionais envolvidas na técnica de SPME, tais como temperatura e tempo de extração, pH da amostra e força iônica (efeito *salting-out*);
- Determinação das figuras analíticas de mérito, tais como limite de detecção (LOD) e quantificação (LOQ) de cada composto estudado, faixa linear de trabalho, coeficiente de correlação (r^2), exatidão (recuperação) e precisão (RSD%);
- Aplicação do método em amostra de água de rio;

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Materiais e Reagentes

Para o desenvolvimento deste projeto foram utilizadas soluções estoque de 3 – (4 - metilbenzilideno) cânfora 98,5% (Fluka) e 2-etilhexil 4-(dimetilamino) benzoato 98% (Sigma – Aldrich), pó de cortiça (≤ 200 mesh) como biossorvente extrator, lixa d'água nº15 (Carborundum, Rio de Janeiro, Brasil), Cola Epóxi Araldite Transparente (Brascola, São Bernardo do Campo, Brasil) solventes orgânicos com grau cromatográfico como metanol (J.T. Baker) e água ultrapura. Para a avaliação da força iônica foi utilizado cloreto de sódio (Vetec, Rio de Janeiro). O ajuste do pH da amostra foi realizado com soluções aquosas de ácido clorídrico 5% (m/v) e hidróxido de sódio 1 mol/L (Vetec, Rio de Janeiro, Brasil). A eficiência de extração da fibra de cortiça foi comparada com fibras comerciais PDMS (100 μm) e PDMS/DVB (65 μm).

4.2. Instrumentação

4.2.1 Cromatografia e condições cromatográficas

A análise cromatográfica foi realizada em um GC–MS QP2010 Plus equipado com injetor *split/splitless* e detector de espectrômetro de massas (Shimadzu, Japão). Para a separação cromatográfica foi empregada uma coluna capilar ZB-5MS (5% difenil e 95% dimetilpolisiloxano) com dimensões 30 m \times 0,25 mm \times 0,25 μm) (Zebron, Estados Unidos da América). Gás hélio foi empregado como fase móvel com fluxo de 1,2 mL/min. A temperatura inicial do forno foi de 110 °C (1min) seguido por 12 °C/min até 280 °C por 10 minutos. A injeção foi realizada no modo *splitless*, a temperatura do injetor foi de 260 °C e o tempo de dessorção da fibra de SPME foi de 10 min. Foi utilizado detector MS com ionização por impacto de elétrons a 70 eV com temperatura na fonte de ionização de 230 °C e na interface de 280°C. O filamento do MS foi programado para ligar 15 minutos após o início da análise cromatográfica. Para otimização do processo de extração o GC-MS foi operado em modo *scan* (m/z 35 to m/z 400). As figuras analíticas de mérito, bem como as análises das amostras foram realizadas através do modo SIM (monitoramento de íon selecionado, *do inglês Selected Ion Monitoring*), onde foram selecionadas 3 razões

massa/carga de cada analito: 4-MBC m/z 211, 239, 254 (íon utilizado para quantificação) e OD-PABA m/z 148, 277, 165 (íon utilizado para quantificação).

4.2.2 Microextração em fase sólida

Para o preparo das fibras de SPME, bem como para a otimização dos parâmetros de extração foram utilizados os seguintes materiais e equipamentos:

- Banho termostático (Lab Companion RW 0525G, Coréia do Sul)
- Barra magnética para agitação
- Agitador magnético (DIST, Brasil)
- Bloco de aquecimento (DIST, Brasil)

4.2.3 Padrões

Para o preparo e homogeneização dos padrões e soluções, foram utilizados os seguintes instrumentos:

- Balança modelo Marte AY220 (Shimadzu, Japão)
- Ultrassom modelo 28x (Ney Ultrasonik, EUA)

4.3. Preparo das soluções

Os padrões utilizados neste trabalho foram preparados em metanol (solução 10 mL) nas concentrações de 1000 mg/L cada e a partir desta solução estoque, foi preparada uma mistura dos compostos com concentração 100 mg/L. A partir, dessa mistura foram preparadas outras misturas diluídas, as quais foram empregadas para a execução dos experimentos.

4.4. Preparo da fibra

Para o preparo da fibra (Figura 8), foram utilizados fios de Nitinol (NiTi) de 0,2 mm de espessura e 2 cm de comprimento como o suporte para a deposição da cortiça. Para aderir o bioissorvente ao suporte, foi aplicada cola epóxi ao fio e logo depois o pó de cortiça (≥ 200 mesh) foi colado.

Os fios com bioissorvente foram colocados em um bloco de aquecimento e expostos a uma temperatura de 180 °C durante 90 minutos. Após as fibras foram condicionadas à 260 °C durante 60 minutos em uma porta de injeção de GC.

Figura 8: Esquema do procedimento de produção das fibras de cortiça.



Fonte: Autoria própria

4.5. Otimização dos parâmetros de extração

Alguns parâmetros que afetam a extração por DI-SPME de compostos utilizados como filtros UV foram estudados. Através de uma otimização univariada, foi avaliado o pH (4,20; 7 e 8,16) da solução e, para avaliação dos parâmetros temperatura (16 – 80 °C), tempo de extração (33 – 117 min) e força iônica (0 – 30% de NaCl), utilizou-se uma otimização multivariada através de um planejamento composto central com 17 experimentos como pode ser visualizado na Tabela 2.

Tabela 2: Planejamento composto central empregado para otimização dos parâmetros que afetam a extração de compostos utilizados como filtros UV em amostras de água por DI-SPME com fibra de cortiça.

Experimentos	Tempo (min)	Temperatura (°C)	% NaCl
1	50	30	6
2	50	70	24
3	100	30	24
4	100	70	6
5 (ponto central)	75	50	15
6	50	30	24
7	50	70	6
8	100	30	6
9	100	70	24
10 (ponto central)	75	50	15
11	33	50	15
12	117	50	15
13	75	16	15
14	75	80	15
15	75	50	0
16	75	50	30
17 (ponto central)	75	50	15

Fonte: Autoria própria

4.6 Parâmetros otimizados

A extração foi realizada por DI – SPME empregando a fibra de cortiça. Foram utilizados 25 mL de amostra para cada extração em frascos de 40 mL e equilibrados nas condições de extração previamente otimizadas. A fibra foi imersa na amostra por 70 min a 80 °C sob agitação magnética de 1000 rpm. Ao término do tempo de extração, a fibra é retirada do sistema, lavada com água ultrapura para a retirada do sal e após, é inserida no injetor do GC para dessorção a 260° C por 15 min.

4.7 Amostra

Para a validação deste trabalho, o método desenvolvido foi aplicado em uma amostra de água de rio, coletada no distrito de Pirabeiraba, município de Joinville/SC. As amostras foram armazenadas em frascos de vidro âmbar, devidamente selados, sob refrigeração à uma temperatura de 4°C.

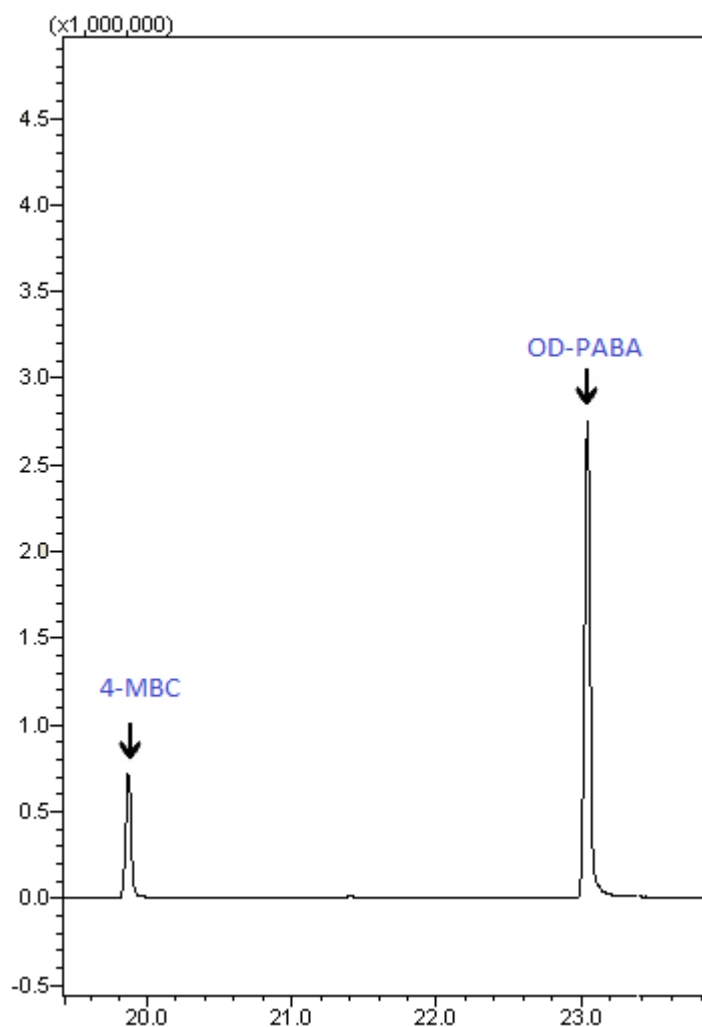
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Otimização dos parâmetros cromatográficos

5.1.1 Tempo de retenção

Para a determinação do tempo de retenção dos analitos, foi feita a injeção direta com *split* (100:0) de uma mistura de compostos utilizados como filtros solares à uma concentração de 100 mg/L empregando o modo de detecção *FullSCAN* no GC-MS. Na Figura 9 é possível observar que o tempo de retenção para o 4-MBC é de 19,9 minutos e para o OD-PABA é de 23,1 minutos.

Figura 9: Cromatograma obtido a partir da injeção direta da mistura de 4-MBC e OD-PABA, 100 mg/L em metanol.



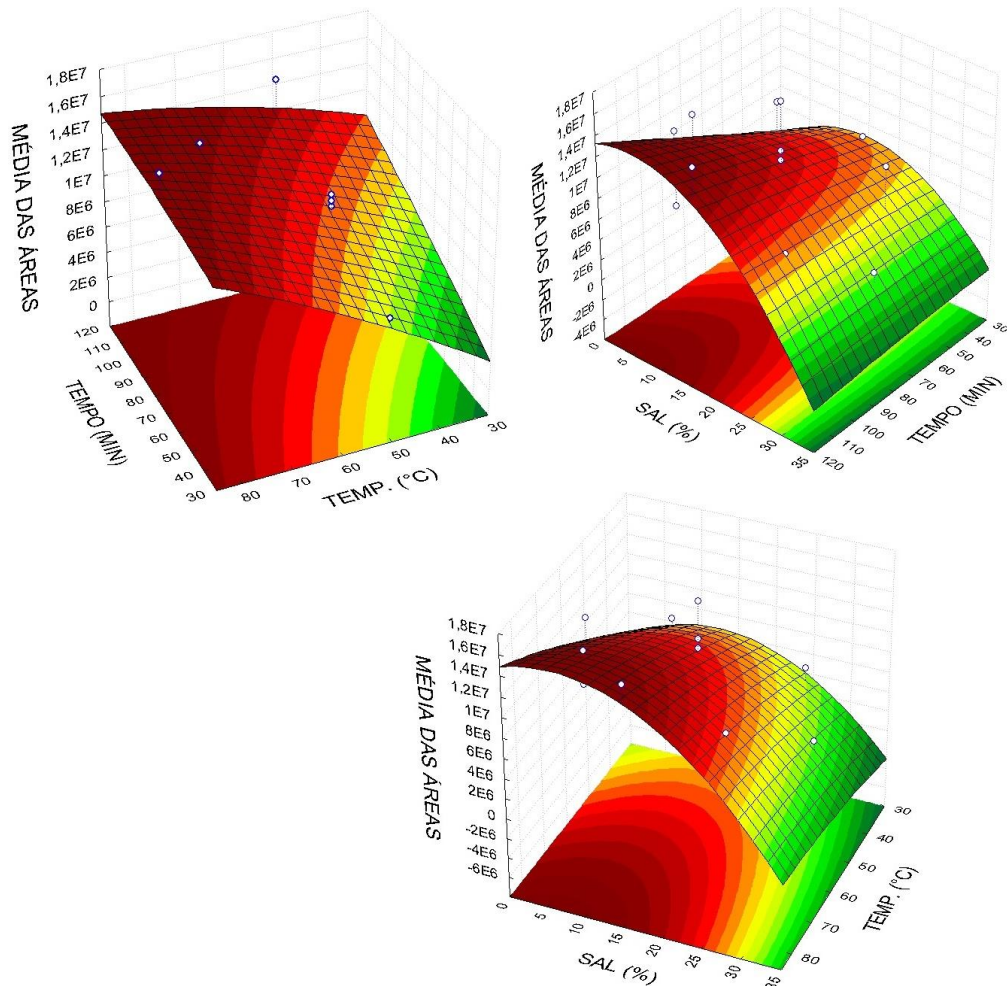
Fonte: Autoria própria

5.2 Otimização dos parâmetros de extração

5.2.1 Otimização multivariada

Para otimização das variáveis tempo de extração, temperatura de extração e força iônica (% NaCl), bem como a condição compromisso entre estas, foi feito o planejamento composto central. Através deste planejamento (Figura 9), foram definidas as condições ótimas de extração como: 70 min de extração a 80° C e uma percentagem de NaCl em solução de 6%. O composto 4-MBC ($\log K_{ow}$: 4,95) apresenta um caráter mais polar que o OD-PABA ($\log K_{ow}$: 5,412), essa diferença é observada a partir dos valores de $\log K_{ow}$. A superfície individual do composto 4-MBC apresentou melhores resultados com percentagens maiores de NaCl em solução, entre 10 – 15%, possivelmente devido à maior solubilidade deste composto em água, já a superfície individual do composto OD-PABA apresentou resultados melhores em concentração menores de sal, entre 0 e 6% de NaCl. Esses resultados podem ser explicados devido a diferença de polaridade dos compostos. No entanto, a concentração de 6% foi escolhida como condição compromisso para os dois analitos estudados conforme a Figura 10. No que se refere a temperatura da amostra, sabe-se que sua elevação favorece a difusão dos analitos para a fibra, por isso, a temperatura de 80° C foi utilizada. Conforme estudos realizados até o momento, a fibra de cortiça tem apresentado um tempo ótimo de extração ≥ 60 min para extração por DI-SPME de compostos semi-voláteis^{12,13}.

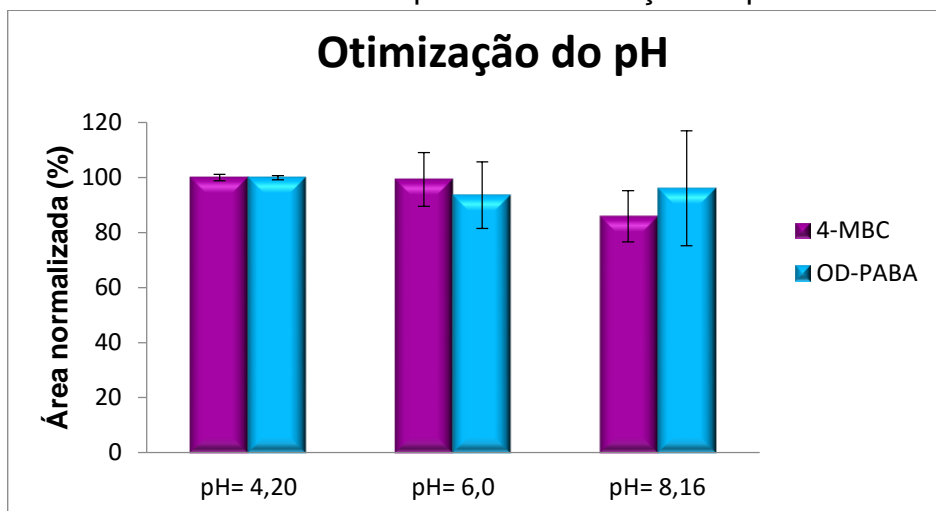
Figura 10: Superfícies de resposta obtidas através do planejamento composto central e das médias geométricas das áreas cromatográficas considerando os dois analitos estudados.



Fonte: Autoria própria

5.2.2 Otimização univariada

Um estudo prévio descrito na literatura mostra que, para o composto OD-PABA, em um meio ácido a extração é favorecida, já em um meio alcalino, as respostas diminuem drasticamente, isso acontece, possivelmente, devido à hidrólise neste meio^{8,24}. Devido a não ionização do composto 4-MBC, a extração do mesmo não deve ser afetada com a variação do pH do meio, contudo, nos estudos prévios^{8,24}, este composto também apresentou melhores resultados em meio ácido. Neste trabalho, resultados semelhantes foram encontrados para os compostos, OD-PABA e 4-MBC (Figura 11), ou seja, em meio ácido a extração foi mais efetiva para ambos analitos.

Figura 11: Gráfico de barras obtido a partir da otimização do pH.

Fonte: Autoria própria

5.3 Figuras de mérito

Inicialmente, para calcular os limites de detecção e quantificação (Tabela 3), foram empregadas as seguintes faixas lineares: 0,01 – 0,5 µg.L⁻¹ para o 4 – MBC e 0,001 – 0,05 µg.L⁻¹ para o OD-PABA, em 10 níveis de concentração. Os limites de detecção e quantificação foram calculados a partir do programa *Origin* onde:

$$LOD = \frac{3,3 \times \text{desvio do intercepto}}{\text{inclinação da curva de calibração}} \quad \text{e} \quad LOQ = \frac{10 \times \text{desvio do intercepto}}{\text{inclinação da curva de calibração}}$$

Tabela 3: Parâmetros de mérito para o método desenvolvido.

Composto	LOD (µg L ⁻¹)	LOQ (µg L ⁻¹)	Faixa linear de trabalho (µg L ⁻¹)	Curva analítica	r ²
4 – MBC	0,03	0,1	0,1 – 0,5	y = 478795x + 16827	0,9829
OD-PABA	0,004	0,01	0,01 – 0,05	y = 3E+06x + 7203,5	0,9782

Fonte: Autoria própria

Foram feitos ensaios de recuperação em dois níveis de concentração e triplicata em cada nível, para cada analito (Tabela 4) e na Figura 12 são apresentados os cromatogramas da amostra fortificada e do branco da mesma. Os

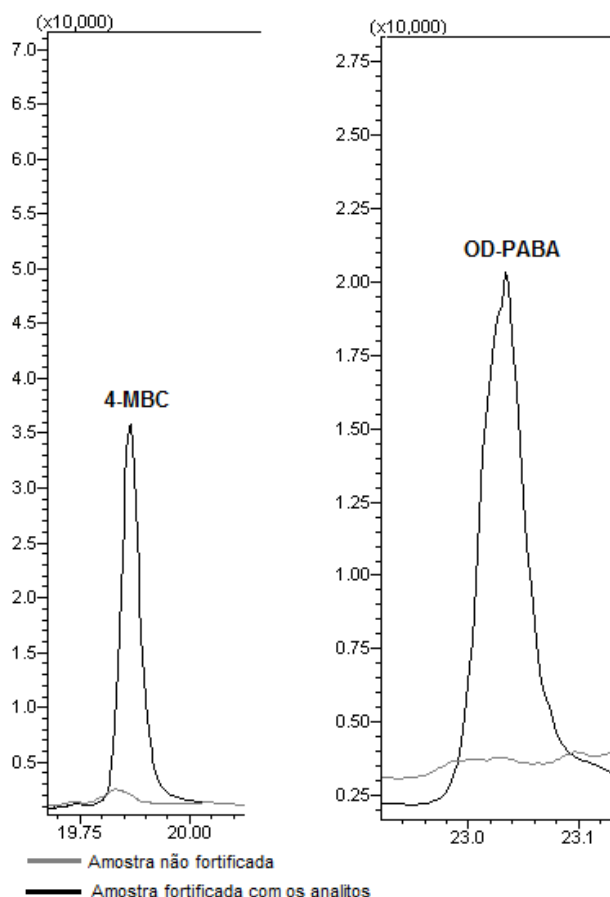
resultados encontrados foram aceitáveis (67% a 117%) e apresentaram boa precisão ($RSD \leq 18\%$).

Tabela 4: Resultados de precisão e exatidão do método.

Composto	Nível de fortificação ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Recuperação (%)	RSD (%)
4 - MBC	0,1	117	9
	0,4	107	18
OD-PABA	0,01	107	4
	0,04	67	3

Fonte: Autoria própria

Figura 12: Cromatogramas obtidos através da extração por DI-SPME com a fibra de cortiça da amostra de rio não fortificada e da amostra de rio fortificada com os analitos ($0,4 \mu\text{g.L}^{-1}$ de 4-MBC e $0,04 \mu\text{g.L}^{-1}$ de OD-PABA)

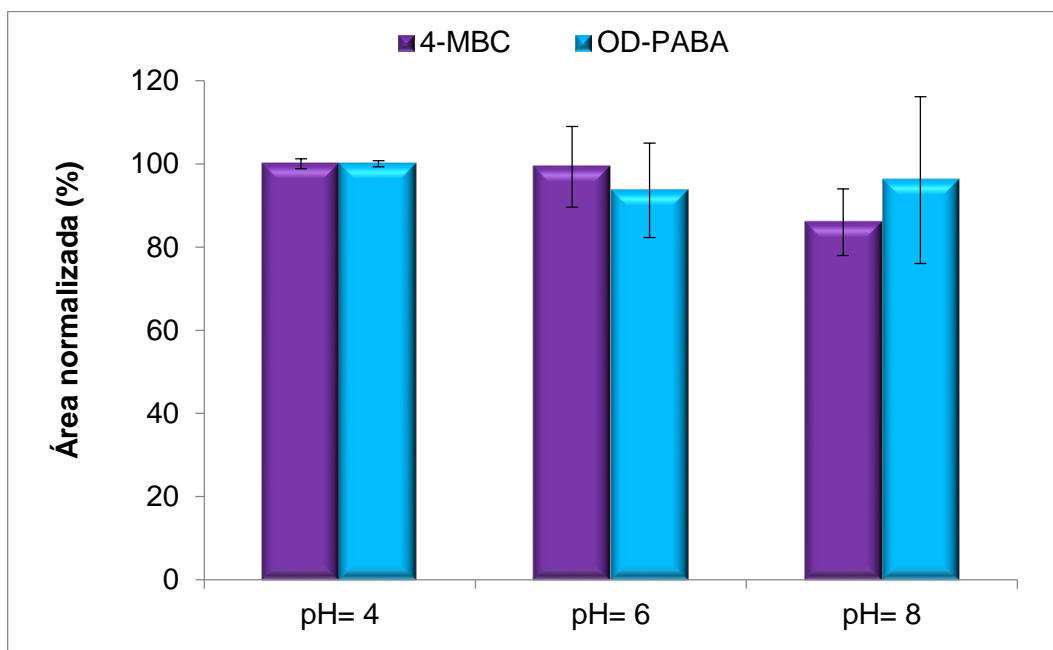


Fonte: Autoria própria

5.4 Comparação com fibras comerciais

A eficiência da extração da fibra de cortiça foi comparada com duas fibras comerciais, como pode-se observar na Figura 13, a fibra de cortiça foi a que melhor extraiu os analitos nas condições propostas. Esses resultados podem ser explicados de diferentes maneiras. De acordo com a literatura, a cortiça apresenta boa sorção para compostos com $K_{ow} > 4$. Outra explicação, é que a cortiça pode interagir com os compostos por interações π - π , dipolo-dipolo ou ligações de hidrogênio.

Figura 13: Gráfico de barras obtido através da comparação na eficiência de extração utilizando fibras comerciais.



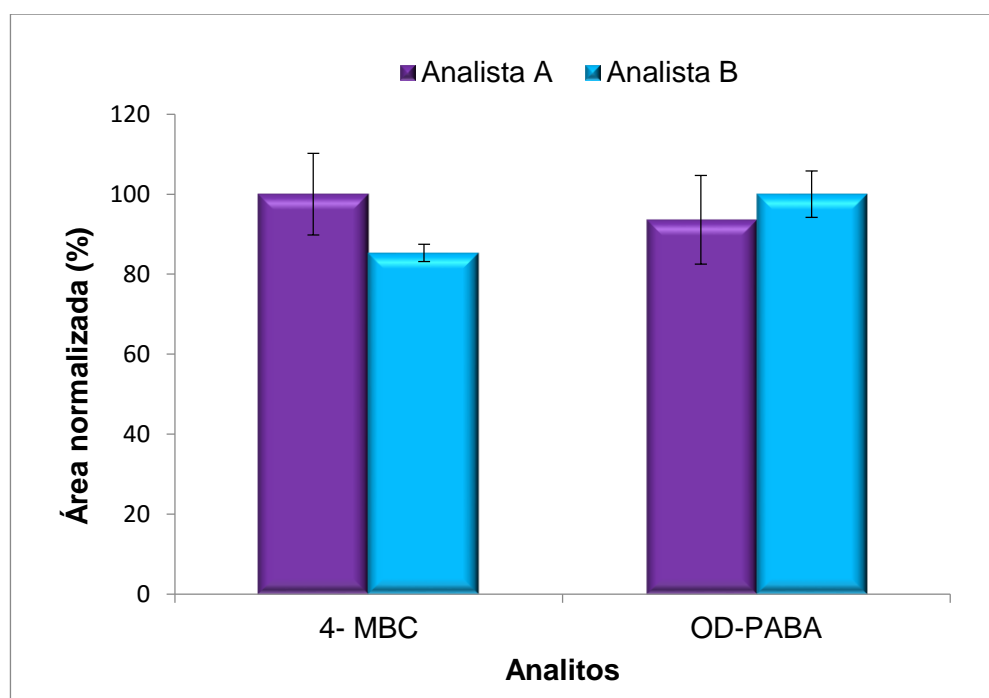
Fonte: Autoria própria

A fibra de cortiça apresentou melhores resultados que as fibras comerciais (Figura 13), por outro lado o método que emprega esta fibra tem maior tempo de extração, no entanto não utiliza solventes e a fase extratora é renovável e natural (Tabela 5). Além disso, o método com a fibra de cortiça faz o isolamento, concentração e extração dos analitos em apenas uma etapa quando comparado aos demais descritos na literatura (Tabela 5).

5.5 Comparação na eficiência de extração utilizando fibras produzidas por diferentes analistas

Foram feitos testes utilizando fibras produzidas por diferentes analistas para comparação na eficiência de extração. Como pode ser visto na Figura 14, mesmo que a fibra seja feita por diferentes analistas, sua precisão é muito semelhante.

Figura 14: Gráfico de barras obtido através da comparação na eficiência de extração utilizando fibras produzidas por diferentes analistas.



5.6 Comparação de estudos descritos na literatura

Na tabela 5, a faixa linear do método proposto é comparada com as faixas lineares de artigos publicados na literatura e é possível observar que os resultados encontrados são similares ou melhores que os dados da literatura.

Tabela 5: Comparação entre estudos descritos na literatura e o método proposto empregando fibra de cortiça na determinação de compostos utilizados como filtros UV em amostras aquosas.

Estudo	Analito	Preparo de amostra	Faixa linear (µg/L)
Este estudo	4-MBC	DI-SPME 25 mL de amostra com pH 4 e 9% de NaCl foram transferidos para um frasco de 40 mL e equilibrados antes da extração. A fibra foi imersa na amostra por 70 min a 80 °C e agitação magnética de 1000 rpm. Após esse período, a fibra foi rapidamente imersa em água ultrapura para remoção do sal e logo em seguida inserida no injetor do GC para dessorção a 260 °C por 15 min.	0,1 – 0,5
	OD-PABA		0,01 – 0,05
[5]	4-MBC	DLLME 5 mL de amostra com pH ajustado em 2,54 são submetidos à DLLME através de injeção rápida de uma pré-mistura de 300 µL de solventes (250 µL de acetona e 50 µL de clorofórmio). Uma vez que as soluções turvas são formadas, foram centrifugadas a 3500 rpm por 5 min. Após a centrifugação, a fase orgânica sedimentada foi coletada para análise por GC-MS.	0,1 – 0,5
[24]	OD-PABA	DI-SPME Foram utilizados 15 mL de amostra no procedimento e a fibra de N-CNP/SS foi imersa na solução agitada por 50 min a uma temperatura de 45 °C. Posteriormente, a fibra foi retirada da amostra e introduzida na interface do SPME-HPLC para dessorção estática na fase móvel. Antes da próxima extração, a fibra de N-CNP/SS é imersa em metanol e água ultrapura, para eliminar um possível efeito de memória, por 15 min e 5 min, respectivamente.	0,05 - 150
[25]	OD-PABA	DI-SPME A extração foi realizada com 15 mL de amostra. O revestimento da fibra preparado com nanofolhas de Zn-ZnO foi diretamente imerso na solução da amostra por 40 min à uma temperatura de 45 °C. Após extração, a fibra foi recolhida e imediatamente introduzida na interface do HPLC para a dessorção SPME estática na fase móvel. Entre duas extrações, a fibra é imersa em metanol e água ultrapura, 10 minutos e 5 minutos, respectivamente, para eliminar possíveis efeitos de memória.	0,1 - 200
[26]	4-MBC	SBSDµE A barra de agitação foi introduzida no frasco e agitada magneticamente por 10 min em alta velocidade para solvatação das nanopartículas. Em seguida, a barra de agitação com revestimento de MNPs foi removida da solução com pinça de plástico limpa e então foi imersa em 25 mL de amostra com pH 4 e 5% de NaCl e agitada intensamente por 30 min em temperatura ambiente. Ao final do processo de agitação, as nanopartículas foram magneticamente resgatadas e a fibra com revestimento de MNPs foi removida com pinça de plástico limpa e colocada num tubo de ensaio de vidro acoplado diretamente ao GC-MS, para realização da dessorção térmica.	0,1 – 0,5
	OD-PABA		0,1 – 0,5
[27]	4-MBC	DLLME 10 g de amostra de água com um pH 3 foram submetidos a DLLME por injeção rápida de uma mistura de 50 µL de tricloroetano e 1000 µL de acetona, depois o tubo foi selado e agitado manualmente de forma suave por 30 segundos e depois centrifugado a 3500 × g por 1 min. Um volume de 38 µL de fase sedimentada foi transferido para um frasco âmbar onde o padrão interno foi adicionado, esta mistura foi evaporada sob um fluxo de nitrogênio gasoso. Finalmente os analitos foram sinalizados, por adição de 40 mL de BSTFA com 1% TMCS durante 5 minutos num forno de microondas “doméstico” (600 W) e, por fim, 1 mL de extrato foi injetado no sistema de GC-MS.	0,05 - 50
	OD-PABA		0,01 - 50
[28]	4-MBC	MSA-DLLME em seringa Método por extração online, pré-concentração, derivatização e separação cromatográfica de compostos utilizados como filtros UV. A limpeza das	0,20 - 500

OD-PABA	seringas e do coletor foi feita com acetona e água ultrapura. Assim, um possível efeito de memória é evitado. Condições ótimas: Tricloroetileno: BSTFA 350 µL, acetona 600 µL e 160 segundos de agitação. Todo o procedimento com a extração simultânea e a derivatização dos analitos, e a injeção no GC-MS foi realizado em 6 min.	0,40 - 500
---------	--	------------

Fonte: Autoria própria

6. CONCLUSÃO

Neste trabalho foi desenvolvido uma nova metodologia para determinação de compostos utilizados como filtros ultravioletas. Durante o desenvolvimento, a utilização de uma fibra de SPME com recobrimento do biossorvente cortiça, mostrou-se uma alternativa eficiente e de baixo custo para a extração destes compostos.

A utilização do planejamento composto central foi essencial para identificação das condições compromisso para extração dos analitos sem prejudicar a eficiência de extração. O método apresentou resultados satisfatórios com ensaios de recuperação entre 67 e 117% relacionados com um RSD \leq 18% e a faixa linear do método proposto está condizente com outros métodos descritos na literatura. Quando comparada à outras fibras, a cortiça mostrou maior eficiência de extração.

O uso de biossorbentes vem se mostrando promissor em técnicas de microextração associadas à cromatografia líquida e gasosa.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ¹ ZHANG, H., LEE, H. K. Simultaneous determination of ultraviolet filters in aqueous samples by plunger-in-needle solid-phase microextraction with graphene-based sol-gel coating as sorbent coupled with gas chromatography – mass spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, 742 (2012) 67 – 73.
- ² OZÁEZ, I., AQUILINO, M., MORCILLO, G., MARTÍNEZ-GUITARTE, J.L. UV filters induce transcriptional changes on different hormonal receptors in *Chironomus riparius* embryos and larvae. **Environmental Pollution** 214 (2016) 239 – 247.
- ³ JURADO, A., GAGO-FERRERO, P., VÁZQUEZ-SUÑÉ, E., CARRERA, J., PUJADES, E., DÍAZ-CRUZ, M. S., BARCELÓ, D. Urban groundwater contamination by residues of UV filters. **Journal of Hazardous Materials** 271 (2014) 141 – 149.
- ⁴ SAMBANDAN, D.R., RATNER, D. Sunscreens: An overview and update. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 64 (2011) 748 – 758.
- ⁵ BENEDÉ, J. L., CHISVERT, A., SALVADOR, SÁNCHEZ-QUILES, A. D., TOVAR-SÁNCHEZ, A. Determination of UV filters in both soluble and particulate fractions of seawaters by dispersive liquid – liquid microextraction followed by gas chromatography – mass spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, 812 (2014) 50 – 58.
- ⁶ DEMIRBAS, A. Heavy metal adsorption onto agro-based waste materials: A review. **Journal of Hazardous Materials**, v. 157, p. 220-229, 2008.
- ⁷ FERREIRA, R.; PEREIRA, D.; GAGO, A.; PROENÇA, J.; Experimental characterisation of cork agglomerate core sandwich panels for wall assemblies in buildings. **Journal of Building Engineering** 5 (2016) 194 – 210
- ⁸ OLIVELLA, M. À., FERNÁNDEZ, I., CANO, L. JOVÉ, P., OLIVERAS, A. Role of chemical components of cork on sorption of aqueous polycyclic aromatic hydrocarbons. **International Journal of Environmental Research**, 2 aug. 2012. Vol. 7, p. 225-234.
- ⁹ NETO, C. P., ROCHA, J., GIL, A., CORDEIRO, N., ESCULCAS, A. P., ROCHA, S., DELGADILLO, I., JESUS, J. D. P., CORREIA, A. J. F. ¹³C Solid-state nuclear magnetic resonance and Fourier transform infrared studies of the thermal

decomposition of cork. **Solid State Nuclear Magnetic Resonance**, 26 sept. 1994. Vol. 4, p. 143-151.

¹⁰ PEREIRA, H. The thermochemical degradation of cork. **Wood Science and Technology**, v. 26, p. 259-269, 1992.

¹¹ DIAS, A. N. Cortiça: uma nova abordagem como fase extratora para microextração em fase sólida e microextração em barra adsortiva. 2015. 151 f. Tese (Doutorado em Química) – Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Catarina.

¹² DIAS, A. N., SIMÃO, V., MERIB, J., CARASEK, E. Use of green coating (cork) in solid-phase microextraction for the determination of organochlorine pesticides in water by gas chromatography-electron capture detection. **Talanta**, 134 (2014) 409 - 414.

¹³ DIAS, A. N., SIMÃO, V., MERIB, J., CARASEK, E., Cork as a new (green) coating for solid-phase microextraction: Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in water samples by gas chromatography–mass spectrometry. **Analytica Chimica Acta** 772 (2013) 33 – 39.

¹⁴ DIAS, A. N., SILVA, A.C., SIMÃO, V., MERIB, J., CARASEK, E. A novel approach to bar adsorptive microextraction: Cork as extractor phase for determination of benzophenone, triclocarban and parabens in aqueous samples. **Analytica Chimica Acta** 888 (2015) 59 – 66.

¹⁵ REZAEI, M. et al. Evolution of dispersive liquid–liquid microextraction method. **Journal of Chromatography A**, 1217 (2010) 2342 - 2357.

¹⁶ CARASEK, E.; MERIB, J.; Membrane-based microextraction techniques in analytical chemistry: A review. **Analytica Chimica Acta**, 880 (2015) 8 – 25.

¹⁷ PENA – PEREIRA, F.; LAVILLA, I.; BENDICHO, C.; Liquid-phase microextraction approaches combined with atomic detection: A critical review. **Analytica Chimica Acta**, 669 (2010) 1 – 16.

¹⁸ SOUZA-SILVA, É. A., JIANG, R., RODRÍGUEZ-LAFUENTE, A., GIONFRIDDO, E., PAWLISZYN, J. A critical review of the state of the art of solid-phase microextraction

of complex matrices I. Environmental analysis. **Trends in Analytical Chemistry**, 71 (2005) 224 – 235.

¹⁹ PAWLISZYN, J., **Applications of Solid Phase Microextraction**, Royal Society of Chemistry, Ontario, 1999, 655 p.

²⁰ REINERT, N. P. **Desenvolvimento de metodologia analítica baseada em SPME para a determinação de contaminantes em água potável**. 2014. 41 f. Trabalho de conclusão de curso – Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Catarina.

²¹ VALENTE, A.L.P.; AUGUSTO, F. Microextração por fase sólida, **Química Nova**, v. 23, n. 4. p. 523-530, 2000.

²² SKOOG, A.D.; WEST, D.M.; HOLLER, F.G., CROUCH, R.S., **Fundamentos de Química Analítica**, Thonson, Learning, 2006, Tradução da 8ª ed. norte americana.

²³ NENG, N. R. **Desenvolvimento de novas metodologias analíticas conducentes à monitorização de poluentes orgânicos prioritários em matrizes aquosas**. 2011. 188 f. Tese (Doutorado em Química) – Departamento de Química e Bioquímica, Universidade de Lisboa.

²⁴ WANG, T-e., GUO, M., SONG, W-l., ZHANG, Y-d., DU, X-z., A new nitrogen-containing carbon nanoparticle coated stainless steel fiber for selective solid-phase microextraction of ultraviolet filters. **Analytical Methods** 7 (2015) 3385 - 3394.

²⁶ BENEDÉ, J.L., CHISVERT, A., GIOKAS, D. L., SALVADOR, A. Determination of ultraviolet filters in bathing waters by stir bar sorptive–dispersive microextraction coupled to thermal desorption–gas chromatography–mass spectrometry **Talanta** 147 (2016) 246 - 252.

²⁵ SONG, W., GUO, M., ZHANG, Y., ZHANG, M., WANG, X., DU, X. Fabrication and application of zinc–zinc oxide nanosheets coating on an etched stainless steel wire as a selective solid-phase microextraction fiber **Journal of Chromatography A** 1384 (2015) 28 - 36.

²⁷ CUNHA, S.C., PENA, A., FERNANDES, J.O. Dispersive liquid–liquid microextraction followed by microwave-assisted silylation and gas chromatography-

mass spectrometry analysis for simultaneous trace quantification of bisphenol A and 13 ultraviolet filters in wastewaters **Journal of Chromatography A** 1414 (2015) 10 - 21.

²⁸ CLAVIJO, S., AVIVAR, J., SUÁREZ, R., CERDÀ, V., In-syringe magnetic stirring-assisted dispersive liquid–liquid microextraction and silylation prior gas chromatography–mass spectrometry for ultraviolet filters determination in environmental water samples. **Journal of Chromatography A** 1443 (2016) 26 - 34.