

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE GENÉTICA E EVOLUÇÃO
BACHARELADO EM BIOTECNOLOGIA

CONNY WARA TERÁN FUKUYAMA

**MICROEXTRAÇÃO DISPERSIVA EM FASE SÓLIDA (D- μ SPE)
PARA EXTRAÇÃO DE PARABENOS EM COSMÉTICOS**

SÃO CARLOS

2025

CONNY WARA TERÁN FUKUYAMA

MICROEXTRAÇÃO DISPERSIVA EM FASE SÓLIDA (D- μ SPE)
PARA EXTRAÇÃO DE PARABENOS EM COSMÉTICOS

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Universidade Federal de São Carlos como
requisito para obtenção do título de Bacharel
em Biotecnologia.

Orientador: Prof. Dr. Fernando Mauro Lanças (IQSC/USP)

Coorientadora: Profa. Dra. Maria Cristina da Silva Pranchevicius (DGE/UFSCar)

SÃO CARLOS

2025

Aos meus pais, Carolina e Edison, por me apoiarem e me incentivarem a cada passo dessa jornada.

À minha irmã, Odara, por ser conforto em todos os momentos.

Aos meus avós, Oscar e Eloina, por acreditarem e me inspirarem.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de expressar minha profunda gratidão a todos que fizeram parte desta trajetória. Primeiramente, agradeço aos meus pais, Carolina e Edison, pelo amor, apoio e incentivo incondicional, que foram essenciais para que eu chegasse até aqui. À minha irmã, Odara, pela cumplicidade e carinho, que são essenciais para aliviar dias difíceis. Aos meus avós, Eloina e Oscar, que com sua sabedoria e afeto sempre me motivaram a seguir em frente e sempre acreditaram nas minhas aspirações.

Às amigas de histórias antigas e memórias inesquecíveis, Andresa, Bianca e Ingrid, por me apoiarem nas ideias mais doidas e improváveis e por sonharem comigo.

Aos amigos que fiz nessa jornada, Jaiane, Maria Júlia, Vinicius, Samara, Luís, Giovanni e Ygor, que estiveram ao meu lado durante essa caminhada, pelo apoio, compreensão e pelos momentos de descontração que tornaram essa caminhada mais leve e especial.

À Universidade Federal de São Carlos pela formação acadêmica que me proporcionou, pelo ambiente de aprendizado e pelas oportunidades acadêmicas que contribuíram para o meu desenvolvimento ao longo da graduação.

Por fim, ao Grupo Croma (IQSC-USP) pelos recursos e estrutura disponibilizados, à Alessandra pelo apoio e auxílio acadêmico e ao Prof. Dr. Lanças pelas orientações que, à sua maneira, contribuíram para que eu me tornasse mais resiliente, autônoma e perseverante.

A todos vocês que contribuíram para que este momento se tornasse possível, deixo aqui meu sincero e profundo agradecimento!

RESUMO

Parabenos são uma classe de conservantes amplamente utilizados em cosméticos, fármacos e produtos alimentícios devido à suas propriedades antimicrobianas e relação custo-efetividade. Estudos recentes têm evidenciado potenciais efeitos adversos associados a esses conservantes, incluindo desregulação hormonal e risco aumentado de câncer, além disso, em bebês, os parabenos estão associados a reações cutâneas e desregulação imunológica. Sorventes à base de óxido de grafeno (GO) vêm sendo empregados na extração de ingredientes cosméticos, sendo que a modificação de GO pode melhorar a seletividades dos sorventes. Este trabalho desenvolveu e otimizou um método analítico para a detecção e quantificação de parabenos (metilparabeno, etilparabeno, propilparabeno e butilparabeno) em amostras de cosméticos (sabonete, hidratante e protetor solar) empregando a microextração dispersiva em fase sólida (D- μ SPE) acoplada à cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por ultravioleta-visível (HPLC-UV/Vis) e por espectrometria de massas (HPLC-MS/MS). Sorventes a base de óxido de grafeno modificados com líquidos iônicos e sorventes comerciais foram analisados pelo método de microextração dispersiva em fase sólida (D- μ SPE) e microextração por sorvente empacotado (MEPS). O sorvente modificado com líquido zwitteriônico, ViImC4S@GO, demonstrou superioridade em termos de capacidade extratora em comparação com outros sorventes e foi desenvolvida uma metodologia por D- μ SPE, com base nos parâmetros quantidade de sorvente, solvente de dessorção, quantidade de solvente, tempo de extração, tempo de eluição e volume de amostra; e o desempenho do método foi avaliado através das figuras de mérito seletividade, limite de detecção (LOD), limite de quantificação (LOQ), linearidade, precisão, exatidão, e efeito matriz. Por fim, o método desenvolvido foi aplicado a amostras reais.

Palavras-chave: parabenos; cosméticos; óxido de grafeno (GO) modificado; microextração dispersiva em fase sólida (D- μ SPE); microextração por sorvente empacotado (MEPS).

ABSTRACT

Parabens are a class of preservatives widely used in cosmetics, pharmaceuticals, and food products due to their antimicrobial properties and cost-effectiveness. Recently studies highlighted potential harmful effects associated with these preservatives, including hormonal dysregulation and increase risk of cancer and, in infants, parabens are associated with skin reactions and immunological dysregulation. Graphene oxide-based sorbents have been used on extraction of cosmetic ingredients and graphene oxide (GO) modification can enhance sorbents selectivity. This study developed and optimized an analytical method for the detection and quantification of parabens (methylparaben, ethylparaben, propylparaben and butylparaben) in cosmetic samples (cleanser, moisturizer and sunscreen) using dispersive solid-phase microextraction (D- μ SPE) coupled with high-performance liquid chromatography with ultraviolet and visible light detection (HPLC-UV/Vis) and mass spectrometry (HPLC-MS/MS). GO-based sorbents modified with ionic liquid, as well as commercial sorbents, were evaluated by dispersive solid-phase microextraction (D- μ SPE) and microextraction by packed sorbent (MEPS). The sorbent functionalized with zwitterionic liquid, ViImC4S@GO, exhibited superior extraction capacity compared to other sorbents. A methodology was developed using dispersive solid-phase microextraction (D- μ SPE), based on the parameters such as sorbent amount, desorption solvent, solvent volume, extraction time, elution time, and sample volume; and method performance was assessed through figures of merit including selectivity, limit of detection (LOD), limit of quantification (LOQ), linearity, precision, accuracy, and matrix effect. Finally, the developed method was applied to real samples.

Keywords: parabens; cosmetics; modified graphene oxide (GO); dispersive micro-solid phase extraction (D- μ SPE); microextraction by packed sorbent (MEPS).

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Maiores mercados consumidores mundiais de 2024 no setor de Beleza e Cuidados Pessoais.....	14
Figura 2 - Estrutura geral dos parabenos.....	15
Figura 3 - Efeitos adversos da exposição a parabenos.....	17
Figura 4 - Estrutura moleculares dos parabenos proibidos pela ANVISA RDC 529/2021	18
Figura 5 - Estrutura do metilparabeno, etilparabeno, propilparabeno e butilparabeno.....	19
Figura 6 - (A) Estrutura clássica de MEPS. (B) Etapas da extração por MEPS.....	20
Figura 7 - Esquema comparativo entre as técnicas da D- μ SPE e SPE.....	22
Figura 8 - Esquema dos componentes de um HPLC.....	23
Figura 9 - Conversão de grafite para óxido de grafeno (GO).....	25
Figura 10 - (A) Modificação da superfície de GO com grupos tiol. (B) Ancoragem de líquidos iônicos preparados ao GO-SH.....	25
Figura 11 - Etapas do processo MEPS.....	30
Figura 12 - Processo visual das etapas de condicionamento do sorvente.....	31
Figura 13 - Etapas do processo de Microextração Dispersiva em Fase Sólida (D- μ SPE).....	32
Figura 14 - Avaliação da capacidade extratora de cada sorvente em relação aos parabenos MeP, ETP, PrP e BuP pela técnica de MEPS.	39
Figura 15 - Eficiência da extração de cada sorvente em relação aos parabenos MeP, ETP, PrP e BuP pela técnica de D- μ SPE.....	40
Figura 16 - Curva de calibração dos analitos MeP, EtP, PrP e BuP realizada em HPLC-UV/Vis.....	41
Figura 17 - Avaliação da quantidade de sorvente ViImC4S@GO utilizado na extração de parabenos.....	42
Figura 18 - Avaliação de diferentes solventes de dessorção na extração de parabenos por D- μ SPE.....	43
Figura 19 - Avaliação da quantidade de solvente (ACN + AcF 0,1%) na extração de parabenos por D- μ SPE.. ..	44
Figura 20 - Avaliação do tempo de extração na extração de parabenos por D- μ SPE.....	44
Figura 21 - Avaliação do tempo de eluição na extração de parabenos por D- μ SPE.....	45
Figura 22 - Avaliação do volume de amostra na extração de parabenos por D- μ SPE.....	45
Figura 23 - Avaliação do equipamento de agitação na etapa de extração de parabenos por D- μ SPE.....	46
Figura 24 - Avaliação da velocidade de agitação na etapa de extração de parabenos por D- μ SPE.....	46
Figura 25 - Método otimizado de Microextração Dispersiva em Fase Sólida (D- μ SPE) de parabenos.....	47
Figura 26 - Curva de calibração dos analitos MeP, EtP, PrP e BuP realizada em HPLC-MS/MS.....	48
Figura 27 - Cromatograma de amostra de sabonete líquido facial em branco.....	49
Figura 28 - Cromatograma de amostra fortificada com parabenos (200 ppb) em água.....	50
Figura 29 - Cromatograma de amostra fortificada (200 ppb) em sabonete líquido facial.....	50

Figura 30 - Curvas de calibração de amostras de sabonete fortificadas na faixa de 0,9 a 50 ppb (MeP, EtP, PrP) e 4 a 100 ppb (BuP)	51
Figura 31 - Curvas de calibração dos parabenos em sabonete líquido e solvente.....	53
Figura 32 - Curvas de calibração dos parabenos em hidratante e solvente.....	54
Figura 33 - Curvas de calibração dos parabenos em protetor solar e solvente.....	54
Figura 34 - Cromatograma de amostra real de sabonete facial	55
Figura 35 - Cromatograma de amostra real de hidratante facial	55
Figura 36 - Cromatograma de amostra real de protetor solar facial.....	56

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Sorventes utilizados nos ensaios de extração de parabenos via MEPS e D- μ SPE.....	27
Tabela 2 - Parâmetros otimizados do método por extração D- μ SPE	33
Tabela 3 - Concentrações dos analitos utilizadas para curva de calibração	35
Tabela 4 - Concentrações dos analitos utilizadas para a construção das curvas analíticas para avaliação do efeito matriz.....	37
Tabela 5 - Curva de calibração dos analitos MeP, EtP, PrP e BuP realizada em HPLC-UV/Vis	41
Tabela 6 - Parâmetros estabelecidos para método de extração de parabenos por extração D- μ SPE.....	47
Tabela 7 - Curva de calibração dos analitos MeP, EtP, PrP e BuP realizada em HPLC-MS/MS.	49
Tabela 8 - LOD e LOQ dos analitos MeP, EtP, PrP e BuP	51
Tabela 9 - Avaliação da precisão do método inter e intradias em três níveis de concentração	52
Tabela 10 - Recuperação (%) dos analitos em três níveis de concentração	52

LISTA DE EQUAÇÕES

Equação 1 - Porcentagem da eficiência de extração dos analitos	33
Equação 2 - Média.....	36
Equação 3 - Desvio padrão.....	36
Equação 4 - Coeficiente de variância	36
Equação 5 - Recuperação	36
Equação 6 - Limite de detecção (LOD).....	37
Equação 7 - Limite de quantificação (LOQ)	37
Equação 8 - Relação sinal/ruído (S/N)	37
Equação 9 - Efeito matriz (EM)	37

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AcF – Ácido fórmico

ACN – Acetonitrila

BIN – *barrel insert needle*

BuP – Butilparabeno

C18 – SPE DSC-18 Discovery[®] (C18)

CV – Coeficiente de variação

D- μ SPE – Microextração dispersiva em fase sólida – *Dispersive micro-solid phase extraction*

DPR – Desvio padrão relativo

dSPE – Extração dispersiva em fase sólida – *Dispersive solid-phase extraction*

EM – Efeito matriz

ESI – Ionização electrospray

EtOH – Etanol

EtP – Etilparabeno

G – Grafeno

GC – Cromatografia gasosa

GO – Óxido de grafeno

GO@IL – Óxido de grafeno modificado com líquido iônico

GO@Si-ILz – Óxido de grafeno ancorado à aminopropilsílica

GO-SH – Óxido de grafeno modificado com tiol

HPLC – Cromatografia líquida de alta eficiência – *High performance liquid chromatography*

HPLC-MS/MS – Cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas tandem

HPLC-UV/Vis – Cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por espectrofotômetro na região ultravioleta e visível

HPPC – Setor da indústria de Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos

IL – Líquido iônico

IL hidrofílico – Líquido iônico hidrofílico

IL hidrofílico@GO – Líquido iônico hidrofílico ancorado ao óxido de grafeno

ILz – Líquido iônico zwitteriônico

ILz@GO – Líquido iônico zwitteriônico ancorado ao óxido de grafeno

LC – Cromatografia líquida

LOD – Limite de detecção
LOQ – Limite de quantificação
MeOH – Metanol
MeP – Metilparabeno
MEPS – Microextração por sorvente empacotado – *Microextraction by packed sorbent*
MS – Espectrometria de massas
PrP – Propilparabeno
R² – Coeficiente de determinação
RMS – desvio padrão do ruído
rpm – Rotações por minuto
S/N – Relação sinal-ruído
SPE – Extração em fase sólida
Strata-X – StrataTM-X-CW SPE Phenomenex[®]
UV – Ultravioleta
UV-Vis – Espectroscopia ultravioleta-visível
ViImC4S – 1-vinil-3-(butil-4-sulfonato)imidazolio
ViImC4S@GO – 1-vinil-3-(butil-4-sulfonato)imidazolio ancorado ao óxido de grafeno
[VHiM]Br – Brometo de 1-vinil-3-hexilimidazolio
[VHiM]Br@GO – Brometo de 1-vinil-3-hexilimidazolio ancorado ao óxido de grafeno

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
1.1 Indústria dos cosméticos	14
1.2 Parabenos	15
1.3 Regulamentação do uso de parabenos.....	18
1.4 Técnicas de extração	19
1.5 Técnicas de separação e quantificação	22
1.6 Sorvente seletivo	24
2. OBJETIVOS	26
2.1 Objetivo geral.....	26
2.2 Objetivos específicos.....	27
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	27
3.1 Materiais e equipamentos.....	27
3.1.1 Sorventes	27
3.1.2 Parabenos e solução estoque	28
3.1.3 Preparo de amostras	28
3.2 Equipamento e condições cromatográficas	28
3.2.1 HPLC-UV/Vis	29
3.2.2 HPLC-MS/MS	29
3.3 Métodos de extração: MEPS e D- μ SPE.....	29
3.4 Avaliação da capacidade extratora dos sorventes obtidos.....	32
3.5 Curvas de calibração	33
3.6 Otimização dos parâmetros	33
3.7 Análise das principais figuras de mérito	35
3.8 Aplicação da técnica em amostras reais	38
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	38
4.1 Métodos de extração e avaliação da capacidade extratora dos sorventes.....	38
4.2 Método do HPLC-UV/Vis	40
4.3 Otimização dos parâmetros	41
4.3.1 Quantidade de sorvente	41
4.3.2 Solvente de dessorção	42
4.3.3 Quantidade de solvente	43
4.3.4 Tempo de extração	44
4.3.5 Tempo de eluição	44
4.3.6 Volume de amostra	45
4.3.7 Equipamento de extração	46
4.4 Método do HPLC-MS/MS	48
4.5 Análise das principais figuras de mérito	49
4.5.1 Seletividade	49
4.5.2 LOD e LOQ	50
4.5.3 Linearidade	51
4.5.4 Precisão e recuperação	52
4.5.5 Efeito matriz	53
4.6 Aplicação da técnica em amostras reais	55
5. CONCLUSÃO.....	57
REFERÊNCIAS	58

1. INTRODUÇÃO

1.1 Indústria dos cosméticos

A indústria do setor de higiene pessoal, perfumaria e cosmético (HPPC) apresenta um panorama favorável ao mercado brasileiro, registrando-se como o terceiro maior mercado consumidor mundial em 2024 (ABIHPEC, 2025). O setor de beleza e cuidados pessoais se destaca no mercado brasileiro como um importante gerador de empregos, registrando cerca de 7 milhões de oportunidades de trabalho divididos entre indústria, franquias, consultoria de venda e salões de beleza. Os índices apontam uma crescente na oferta de trabalho de 16% em relação ao período de 2023-2024 (ABIHPEC, 2025).



Figura 1 - Maiores mercados consumidores mundiais de 2024 no setor de Beleza e Cuidados Pessoais. **Fonte:** ABIHPEC (2025).

O efeito matricial evidencia a relevância de um setor ao longo da cadeia produtiva, que produz valor mercadológico com alta inter-relação setorial, alta capacidade de geração de renda e boa capacidade na arrecadação de impostos. Um dos fatores inter-relacionados que o Brasil se destaca e intensifica é na busca de produtos naturais nativos com propriedades benéficas e com a capacidade de substituir produtos aditivos tradicionalmente utilizados no setor de HPPC (AMBERG; FOGARASSY, 2019).

Dentro da classificação como composto aditivo, ou adicionado, podem ser considerados aqueles que adicionam fragrância, conferem estabilidade física e longevidade; aqueles que promovem a estabilidade química ou que agem como agentes removedores de sujeira – como também, compostos químicos que possam garantir a preservação do produto contra microrganismos (BILAL; MEHMOOD; IQBAL, 2020).

1.2 Parabenos

Os parabenos (**Figura 2**) são compostos que se encontram na classe de preservantes. Este grupo de moléculas são formados por ésteres do ácido p-hidroxibenzoico, dos quais destacam-se, principalmente o metilparabeno, etilparabeno, propilparabeno e o butilarabeno. Sua ampla utilização na indústria de cosméticos decorre de três principais propriedades: alta estabilidade química, permitindo que seja adicionado em composições sem riscos de alterações estruturais ou reações em uma ampla faixa de pH; um baixo custo de produção e; principalmente, seu amplo espectro antimicrobiano (SCHMITT *et al.*, 2022).

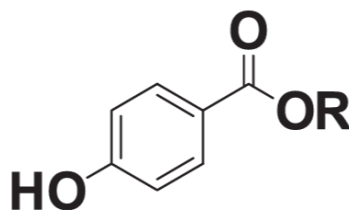


Figura 2 - Estrutura geral dos parabenos (R - radical). **Fonte:** DING *et al.* (2024).

A principal justificativa para seu uso está em sua eficiência na inibição de crescimento bacteriano e fúngico, proveniente de sua interferência na integridade da membrana celular que provoca uma desorganização em proteínas de transporte e enzimas citoplasmáticas essenciais. Este mecanismo de interferência na estabilidade físico-química da membrana celular reduz a viabilidade microbiana, porém, sem comprometer a estabilidade físico-química da formulação adicionada – fator crítico em produtos com alta teor aquoso como sabonetes líquidos e shampoos (SCHMITT *et al.*, 2022). Além disso, apresentam uma elevada compatibilidade com emulsões, são pouco voláteis e não provocam alteração de odor ou cor (SCHMITT *et al.*, 2022). Devido a esses fatores, os parabenos passaram a ser preservantes amplamente utilizados na indústria de cosméticos, sendo que seu primeiro uso reportado foi em 1924 (HALDAR; MUKHERJEE; DEY, 2025); além disso, de acordo com FAYEULLE *et al.* (2021), os parabenos constituem aproximadamente 80% de todos os preservantes utilizados em cosméticos, sendo que o metilparabeno é um dos parabenos mais utilizado e em altas concentrações (NOWAK; JABŁOŃSKA; RATAJCZAK-WRONA, 2021).

O grande ponto de inflexão sobre seu uso cotidiano na indústria veio com o avanço de técnicas analíticas focadas na toxicologia e ecotoxicologia que apontaram que, apesar de suas excelentes propriedades adaptadas a produtos cosméticos e de higiene pessoal, os parabenos possuem comportamento pseudo-persistente (SHARMA, 2021), que apesar de não permanecer no ambiente sem alterações químicas, a sua adição constante e ininterrupta os torna presentes constantemente (WEI *et al.*, 2021). Ou seja, possuem a capacidade de se acumularem em corpos aquosos, sedimentos, assim como em água tratada e pronta para consumo dando indícios de que o processo de tratamento não possui a capacidade de retirar tais resíduos orgânicos (WEI *et al.*, 2021). Estudos ambientais recentes, como o de ALCOLADO *et al.* (2025), buscam viabilizar condições para transformar em produtos de menor risco ambiental no ambiente aquático através de reações ácidas primariamente por reações com ataques nucleofílicos.

Devido sua adição a cosméticos, a principal fonte de exposição humana aos parabenos se dá pela exposição dermal do indivíduo, que culmina na absorção dos parabenos pela pele em sua íntegra (DARBRE; HARVEY, 2008; HONDA; ROBINSON; KANNAN, 2018). Estudos que associam a presença de parabenos com riscos à saúde humana tem tornado essa exposição evidente (**Figura 3**).

Evidência da associação de efeitos a saúde vem crescendo, em especial com relação à sistema reprodutores, desordem metabólica e câncer vem crescendo (WEI *et al.*, 2021). Outros estudos voltados a investigações epidemiológicas indicam uma relação negativa dos níveis de BuP presente na urina e a duração do ciclo menstrual, que manifesta na redução do tempo de duração em mulheres com alta concentração de parabenos (NISHIHAMA *et al.*, 2016).

Impactos da exposição a parabenos para a saúde humana

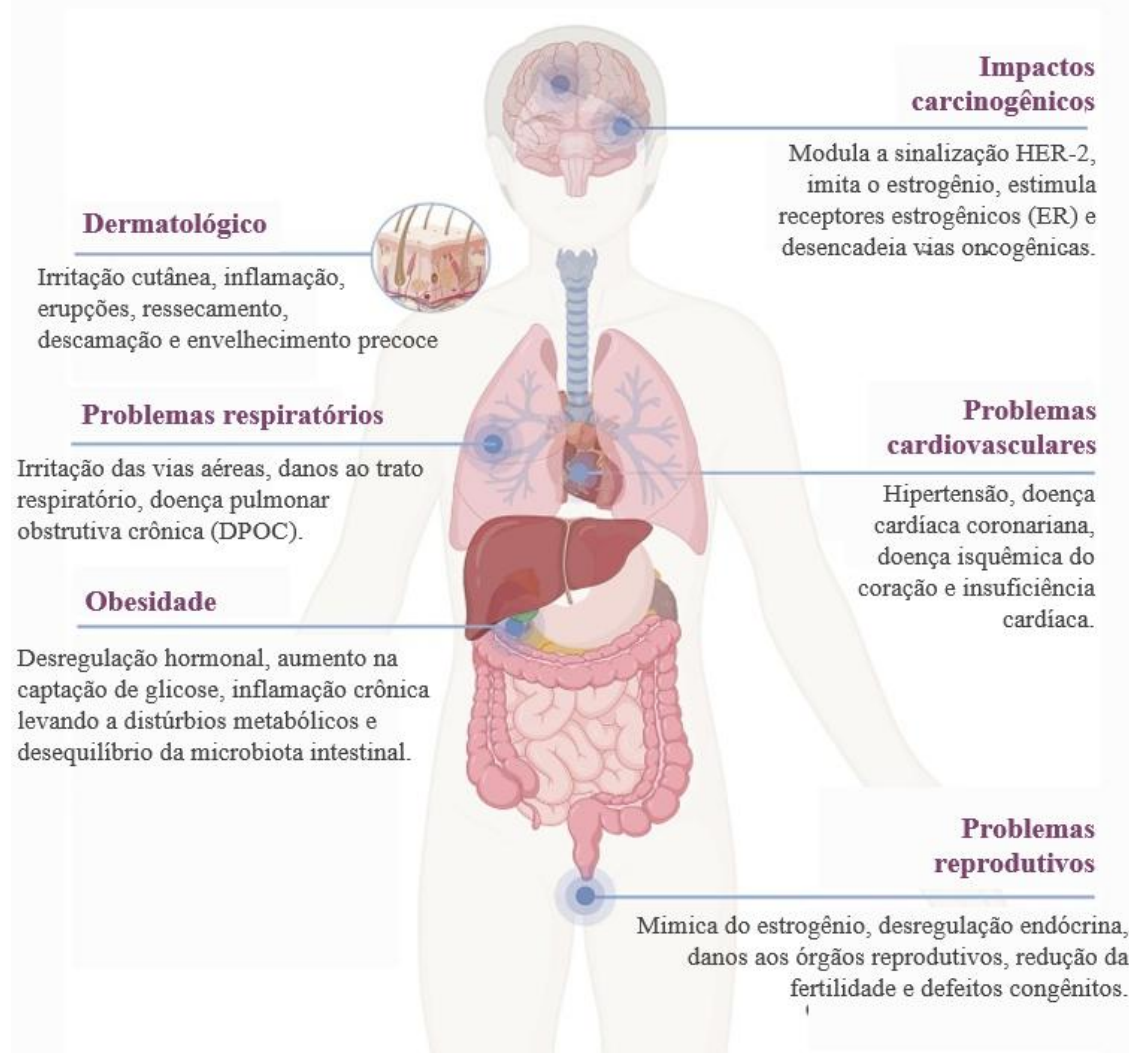


Figura 3 - Efeitos adversos da exposição a parabenos. **Fonte:** Adaptado de CHATTERJEE *et al.* (2024).

Outros riscos associados aos parabenos se relacionam com o sistema endócrino, incluindo atividade antiandrogênica; alterações no sistema reprodutivo de animais macho, alterando a produção de esperma e níveis de testosterona (NISHIHAMA *et al.*, 2017); danos ao DNA; efeitos citotóxicos e genotóxicos em linfócitos humanos; risco de câncer e reações alérgicas (BILAL; MEHMOOD; IQBAL, 2020).

DARBRE *et al.* (2004) identificou e quantificou parabenos presentes no tecido de tumores mamários humanos, sendo encontrados quimicamente intactos. Um grande alerta sobre sua bioacumulação se relaciona também com persistência e identificação de maiores quantidades relacionadas a mulheres grávidas em que LIU *et al.* (2019) identificou correlação entre a exposição de etilparabeno durante o período inicial de gestação com o risco de desenvolvimento de Diabetes Mellitus Gestacional. De acordo com estudos conduzidos por

BAKER *et al.* (2020), o metilparabeno está associado a alterações de hormônios tireoideanos durante a gravidez, parto prematuro, redução no peso do bebê ao nascer, e maiores chances de TDAH. O etilparabeno e butilparabeno foram relacionados com alta toxicidade em peixes-zebra (bioacumulação) em seu estágio embrionário (MEROLA *et al.*, 2020), além disso o etilparabeno causa desregulações no ciclo celular e induz morte celular por apoptose em diferentes tipos de células (KIM *et al.*, 2020).

1.3 Regulamentação do uso de parabenos

Devido aos potenciais riscos que os parabenos podem apresentar, diversos órgãos regulatórios vêm limitando a utilização de determinados parabenos em cosméticos, como ocorre na União Europeia, que proibiu a utilização de propilparabeno, isopropilparabeno, butilparabeno e isobutilparabeno em cosméticos infantis (BILAL; MEHMOOD; IQBAL, 2020; DANISH ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, 2013).

No Brasil, a ANVISA é responsável pela regularização de compostos que podem ser utilizados em cosméticos, e em 2021 alguns parabenos foram proibidos de serem utilizados acima de baixíssimas concentrações (0,4% para cada parabeno) e não mais que 0,8% de concentração total; além disso proibiu a presença em quaisquer concentrações de isopropilparabeno, isobutilparabeno, fenilparabeno, benzilparabeno e pentilparabeno (**Figura 4**) através da Resolução De Diretoria Colegiada – RDC N° 529, de 4 de agosto de 2021.

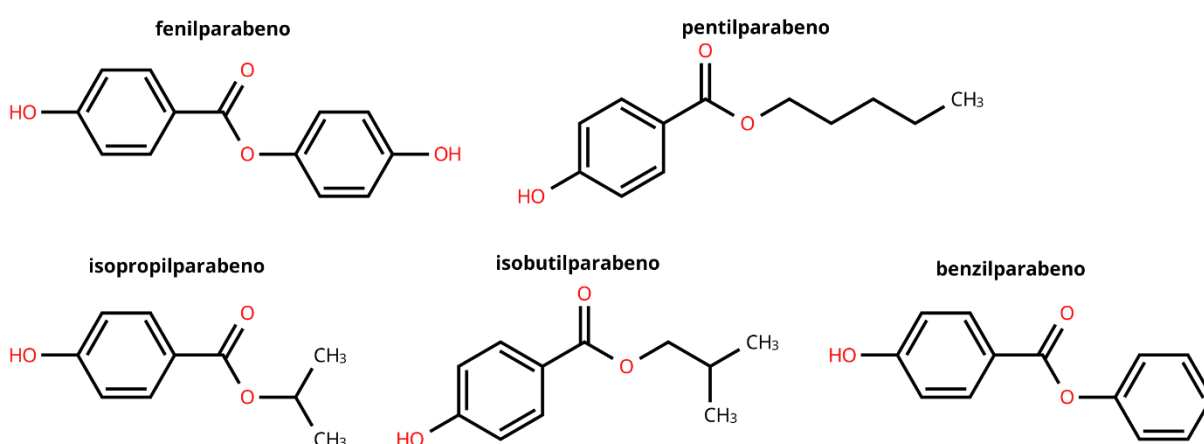


Figura 4 - Estrutura moleculares dos parabenos proibidos pela ANVISA RDC 529/2021. **Fonte:** Elaborada pela autora.

Diante dos riscos associados aos parabenos, e sendo que a maior fonte de exposição a eles é por meio de cosméticos, é importante monitorar e determinar suas concentrações nesses produtos. Este trabalho se inspira nesta problemática para elaborar e desenvolver técnicas analíticas capazes de detectar e quantificar quatro compostos do grupo dos parabenos:

metilparabeno (MeP), etilparabeno (EtP), propilparabeno (PrP) e butilparabeno (BuP) (**Figura 5**) – que são permitidos em quantidades diminutas em cosméticos.

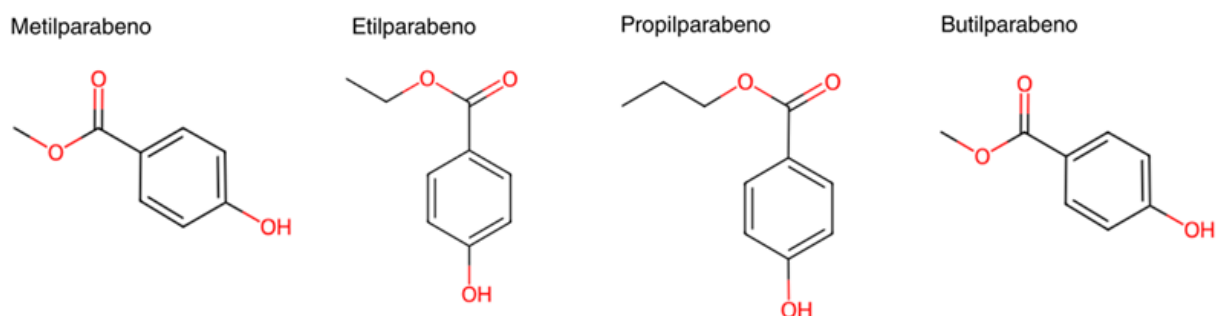


Figura 5 - Estrutura do metilparabeno, etilparabeno, propilparabeno e butilparabeno. **Fonte:** Adaptado de ChemSpider, Chemical structure: 7176, 13846749, 6907, 6916.

A investigação proposta busca contribuir para o monitoramento e quantificação dos compostos através da cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), com o desenvolvimento e otimizando os métodos, utilizando-se da aplicação de técnicas instrumentais acopladas: UV-Vis para a confirmação estrutural e identificação seletiva e MS-MS para quantificação rotineira e monitoramento de amostra padrão – e aplicando as devidas figuras de méritos.

Para tal, os parabenos precisam ser extraídos para que em seguida sejam separados e quantificados, os quais podem ser realizados por diferentes técnicas. Para o processo de extração, foram empregadas as técnicas de Microextração Dispersiva em Fase Sólida (D- μ SPE) e Microextração por Sorvente Empacotado (MEPS) que serão otimizadas para a melhor extração dos compostos de interesse com o auxílio de sorventes baseados em óxido de grafeno.

Após toda a etapa de extração, separação e quantificação estarem otimizadas, o método desenvolvido e otimizado será empregado a produtos comerciais.

1.4 Técnicas de extração

A quantificação de compostos orgânicos, independentemente de sua origem, pode ser realizada por inúmeras técnicas de extração. Contudo, características como a estrutura molecular, o tamanho e a capacidade iônica ou catiônica do analito determinam qual mecanismo de extração a será predominante (BADAWY *et al.*, 2022). Entre os principais mecanismos estão (HARRIS, 2007; SKOOG *et al.*, 2022): Sorção, processo no qual interações químicas regem a separação – quando superficial, adsorção e quando interna a uma macroestrutura, absorção (BADAWY *et al.*, 2022); Partição, processo que descreve a distribuição de um soluto entre duas fases líquidas imiscíveis em equilíbrio, baseando-se na diferença de solubilidade do

composto entre as fases (BERTHOD; CARDA-BROCH, 2004); Troca iônica, mecanismo regido pela interação de um composto químico com um líquido, fase sólida empacotada ou resina funcionalizada com grupos carregados, que retêm o analito por meio de sua incorporação como contra-íon, promovendo sua remoção da matriz (BADAWY *et al.*, 2022); e por fim, o mecanismo de Exclusão, que se baseia na presença de uma fase estacionária com dimensionamento seletivo capaz de reter ou excluir as moléculas da fase móvel baseado em seu tamanho (CHESTER, 2020).

Para o estudo desenvolvido, foram selecionadas duas técnicas, que utilizam de fase sólidas. A primeira técnica selecionada foi a Micro Extração por Sorvente Empacotado, ou MEPS (*Microextraction by Packed Sorbent*), a qual baseia-se na minituarização da Extração em Fase Sólida (SPE) em que um sorvente sólido é empacotado dentro de uma seringa ou cartucho acoplável a um embolo (**Figura 6A**) (CHISVERT; CÁRDENAS; LUCENA, 2019). A amostra é aspirada e dispersa rapidamente através do sorvente, adsorvendo os analitos e em seguida, realiza-se a lavagem e eluição diretamente pela seringa com um uso mínimo de solvente (**Figura 6B**) (SIQUEIRA; FERNANDES; CÉSAR, 2020). A técnica de MEPS promove um contato direcional e dinâmico, forçando a passagem repetidas vezes pelo embolo empacotado o que promove a maior eficiência da extração (SIQUEIRA; FERNANDES; CÉSAR, 2020).

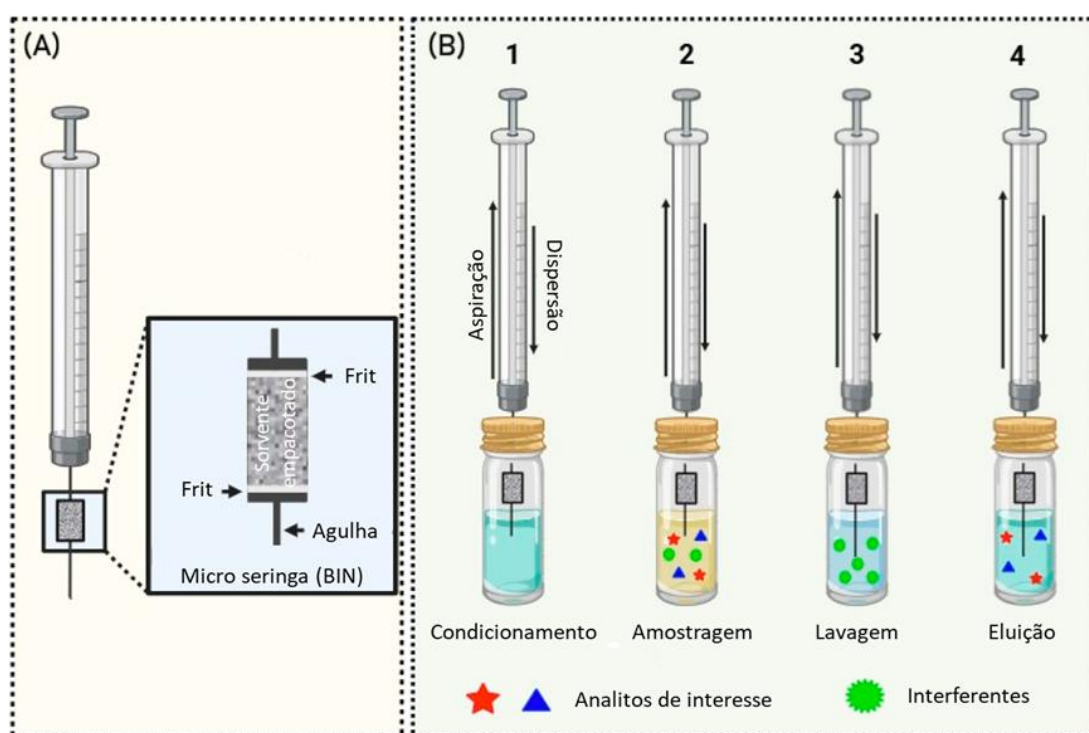


Figura 6 - (A) Estrutura clássica de MEPS. (B) Etapas da extração por MEPS. **Fonte:** Adaptado de MARTINS *et al.* (2024).

A segunda técnica de extração selecionada foi a Microextração Dispersiva em Fase Sólida, ou D- μ SPE (*Dispersive Micro-Solid Phase Extraction*). O princípio da técnica consiste na dispersão do sorvente diretamente na amostra líquida, assegurando interação integral entre o material sorvente e os analitos (D'ORAZIO, 2024). Após a etapa de agitação, o sorvente é separado e o analito é dessorvido, utilizando um pequeno volume de solvente orgânico, possibilitando sua subsequente análise instrumental (DMITRIENKO *et al.*, 2024). Essa técnica proporciona um contato dispersivo e isotrópico, visto que o sorvente permanece suspenso e se dispõe livremente na amostra líquida, permitindo uma grande área de contato superficial disponível para a extração (BADAWY *et al.*, 2022). Técnicas de microextração, especialmente os métodos baseados em fase sólida, vêm substituindo progressivamente as técnicas clássicas de preparo de amostras, como a extração em fase sólida e a extração líquido-líquido, devido à sua maior eficiência, miniaturização e menor impacto ambiental (KABIR; LOCATELLI; ULUSOY, 2017).

A técnica de Extração por Fase Sólida, ou SPE (*Solid Phase Extraction*) utiliza uma coluna, cartucho ou disco empacotado com sorvente em que a amostra líquida é percolada – forçando o analito a interagir com o sorvente e posteriormente eluído (POOLE; POOLE, 2012). A grande diferença entre a D- μ SPE e a SPE vai além da miniaturização da técnica tradicional. O processo de interação com o solvente que, enquanto na técnica dispersiva, aproveita todo o potencial superficial do sorvente, a SPE ocorre em um fluxo unidirecional que ocorre enquanto percorre o cartucho que limita a superfície de contato (BADAWY *et al.*, 2022).

O princípio de dessorção da SPE baseia-se no processo controlado de eluição que percorre a coluna por gravidade, pressão ou vácuo (CHROMIEC; WIETECHEA-POŚLUSZNY, 2024). Os principais diferenciais da D- μ SPE em relação a SPE são a redução do consumo de solvente e de material sorvente, operação mais simples e menor tempo de execução do procedimento (JANO *et al.*, 2025; KHEZELI; DANESHFAR, 2017). Ambas as técnicas possuem boa aplicabilidade, porém, a extração por fase dispersiva permite o uso de nanossorventes e outros materiais inovadores, como o óxido de grafeno (GO), objeto deste estudo (FEIST, 2023; KHEZELI; DANESHFAR, 2017). A **Figura 7** apresenta uma comparação prática entre as técnicas.

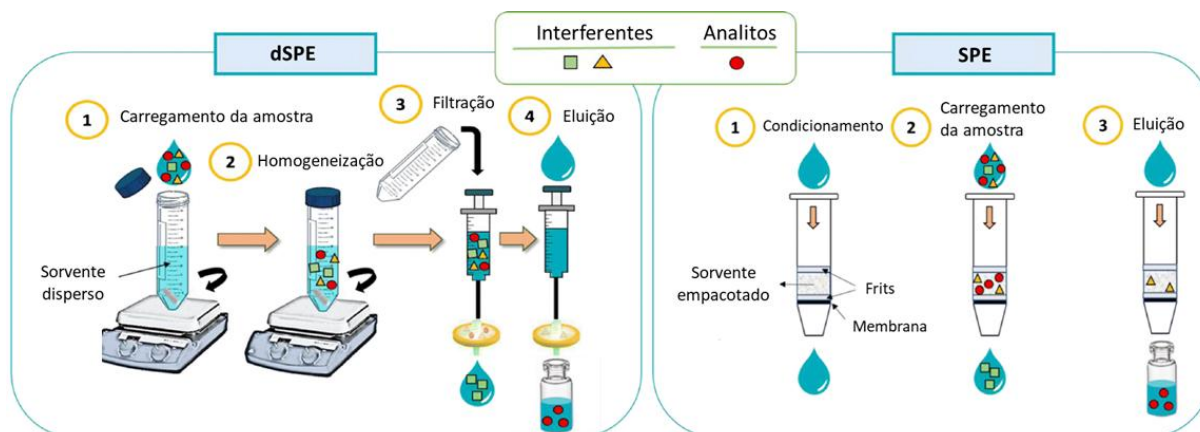


Figura 7 - Esquema comparativo entre as técnicas da D- μ SPE e SPE. **Fonte:** Adaptado de CASADO *et al.* (2019).

MEPS e D- μ SPE possuem alta vantagem em relação a origem dos compostos a serem analisados, já que comportam a fácil adaptação a utilização do Óxido de Grafeno como sorvente (GREDA *et al.*, 2024; MANOUSI *et al.*, 2021). Para o MEPS, o GO é empacotado ou fixado na microcoluna dentro da seringa e a amostra é forçada a atravessar repetidas vezes (MANOUSI *et al.*, 2021). O mecanismo de extração dominante é a sorção que ocorre através da interação π - π entre os anéis aromáticos de GO e os aromáticos dos parabenos que são intensificados pelo uso de solventes polares moderados, como a acetonitrila (CARDOSO; MARTINS; LANÇAS, 2024). Interações por ligações de hidrogênio advindas dos grupos hidroxila e carbonila presentes tanto no sorvente quanto nos analitos também contribuem para o mecanismo de extração e para seletividade; além disso, o caráter ácido do óxido de grafeno favorece a adsorção de analitos catiônicos ou parcialmente protonados (NEMATI; ZAYER; HAMIDI, 2022; ÖZTÜRK ER, 2024).

A D- μ SPE torna-se uma técnica de extração evidente para seu uso por tornar o óxido de grafeno disperso na fase móvel que, de maneira semelhante, promove todas as interações descritas na técnica de MEPS, mas se favorece da dispersão totalmente livre que se utiliza da total capacidade da grande área superficial do sorvente, se aproveitando do máximo da capacidade adsorptiva – e também, promovendo a partição hidrofóbica dos analitos – o que maximiza a capacidade adsorptiva com uma pequena quantidade de GO (GHAZAGHI *et al.*, 2016).

1.5 Técnicas de separação e quantificação

A técnica analítica fundamental da química moderna utilizada para separar, identificar e quantificar compostos presentes em misturas complexas é chamada pelo acrônimo HPLC, ou Cromatografia Líquida de Alta Performance. Seu princípio se baseia na partição diferencial dos

analitos entre uma fase estacionária, empacotada em coluna, e uma fase móvel líquida que é bombeada sobre alta pressão, com controle e regulabilidade. As diferenças nas interações físico-química, como polaridade, tamanho molecular e carga eletrostática, determinam a velocidade de migração e tempo de eluição de cada componente – permitindo a separação com grande fidelidade (HUSSEIN, 2025). A separação dos componentes é detectada na saída da coluna por um detector de fluxo que mede a quantidade de saída. Como exemplificado pelo diagrama esquemático (**Figura 8**) a instrumentação do HPLC inclui um reservatório de solvente, uma bomba injetora, a coluna de separação, um detector e integrador ou sistema de aquisição e exibição. A centralização do sistema é a coluna, propriamente dita que promove a separação dos analitos (ALI, 2022).

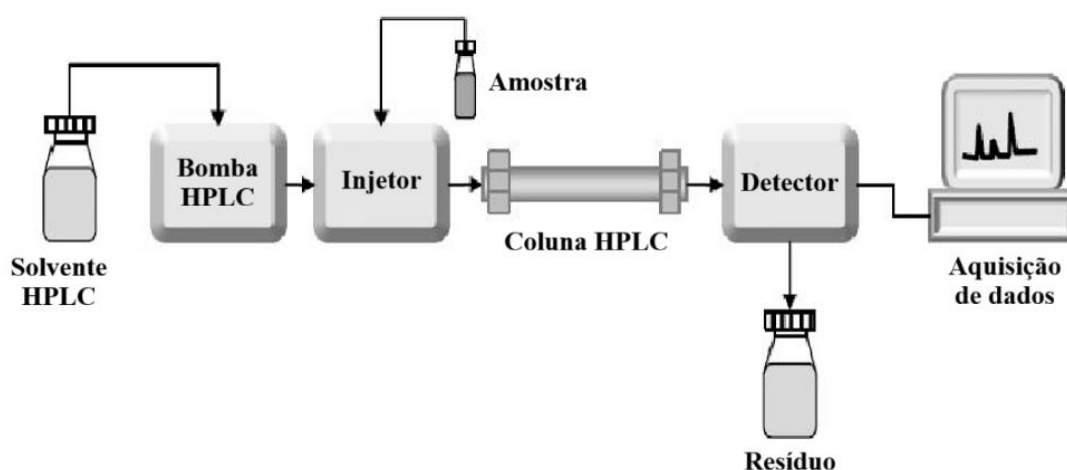


Figura 8 - Esquema dos componentes de um HPLC. **Fonte:** Adaptado de ALI (2022).

A técnica de HPLC apresenta grande versatilidade de aplicação dentre a origem dos analitos, sendo aplicável no meio farmacológico, monitoramento ambiente, segurança alimentar e contaminantes diversos devido a sua alta sensibilidade e capacidade de identificar componentes traços. Sua precisão quantitativa promove a sua utilização em ampla escala, e com método estabelecido, torna-se uma técnica robusta e replicável. Entretanto, a técnica apresenta um alto custo operacional e um alto consumo de tempo para realização. O principal desafio de aplicação se baseia na complexa operação, tornando necessária uma alta adequação de método, otimização e posterior validação (HUSSEIN, 2025).

Em relação aos detectores, o HPLC comporta diversas possibilidades que contribuem de diferentes maneiras a adequação das necessidades de determinação analítica. O detector de Espectroscopia de Massa (MS) é considerado o universal. O detector MS detecta um composto eluído pela coluna de HPLC primeiro e o ioniza, medindo sua massa – e/ou seus fragmentos

moleculares – através da quebra em pedaços menores que são exclusivos de cada composto. O detector MS pode identificar compostos diretamente, já que seu espectro de massa é como uma impressão digital exclusiva de cada composto. A medida, por sua vez, é destrutiva, sem possibilidade de recuperação do composto após a detecção.

Um segundo detector, utilizado neste experimento é o acoplamento do detector por UV-Vis que se baseia na transição eletrônica molecular. Trata-se de um dos detectores mais comuns devido a seu fácil acesso e baixo custo de operação. A lâmpada de mercúrio possui a frequência de onda fixada em 254 nm, região que permite a detecção da transição eletrônica das ligações ($\pi \Rightarrow \pi^*$). Porém, o comprimento de onda pode ser ajustado para selecionar outros comprimentos específicos que refletem a melhor detecção do analito de interesse. A grande limitação do detector se dá em, justamente, ser limitado a somente uma frequência de onda e pode apresentar conflitos devido a absorção UV-Vis do solvente envolvido. Apesar disto, o espectrômetro possui grande versatilidade e permite a construção de curvas de calibração com maior facilidade de obtenção. Para as moléculas de interesse deste estudo, a utilização da frequência de onda padrão torna-se facilitada, já que todos os analitos apresentam anéis aromáticos que comportam ligações π (ALI, 2022).

O sistema HPLC-UV é, em geral, mais rápido e economicamente mais acessível do que o HPLC-MS/MS, tanto em termos de custo operacional quanto de manutenção; no entanto esse sistema possui menor seletividade e sensibilidade do que o sistema HPLC-MS. Isso ocorre porque o detector UV apresenta menor complexidade instrumental, não requer gases de alta pureza, cuidados avançados de calibração ou etapas adicionais de otimização que são típicas dos espectrômetros de massa (CHIRIAC *et al.*, 2022; LEE *et al.*, 2017).

1.6 Sorvente seletivo

Para as técnicas de extração baseadas no uso de fase sólida como as citadas, é necessário o emprego de sorventes seletivos para os analitos investigados, sendo que o óxido de grafeno (**Figura 9**) vêm sendo bastante explorado como potencial fase para extração de diversos compostos em matrizes complexas, pois além de suas propriedades vantajosas como, sua grande área superficial e seu sistema elétron π deslocalizado (VARGAS MEDINA *et al.*, 2023), ainda há a possibilidade de ancorar grupos funcionais à sua estrutura, e assim obter-se um material híbrido. Nesse contexto, os líquidos iônicos podem ser utilizados ligados ao óxido de grafeno (**Figura 10**) e, assim, facilitar a dispersão do analito no sorvente (LIU *et al.*, 2018).

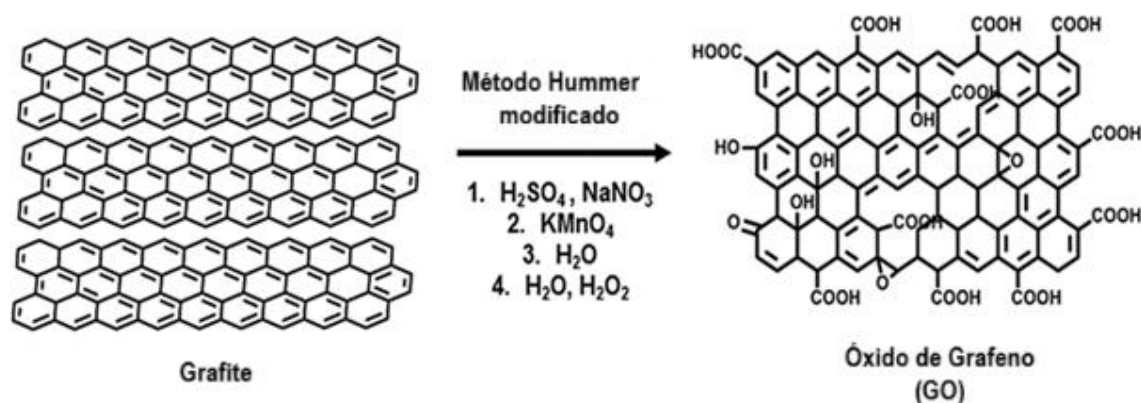


Figura 9 - Conversão de grafite para óxido de grafeno (GO). **Fonte:** Adaptado de KUMAR *et al.* (2019).

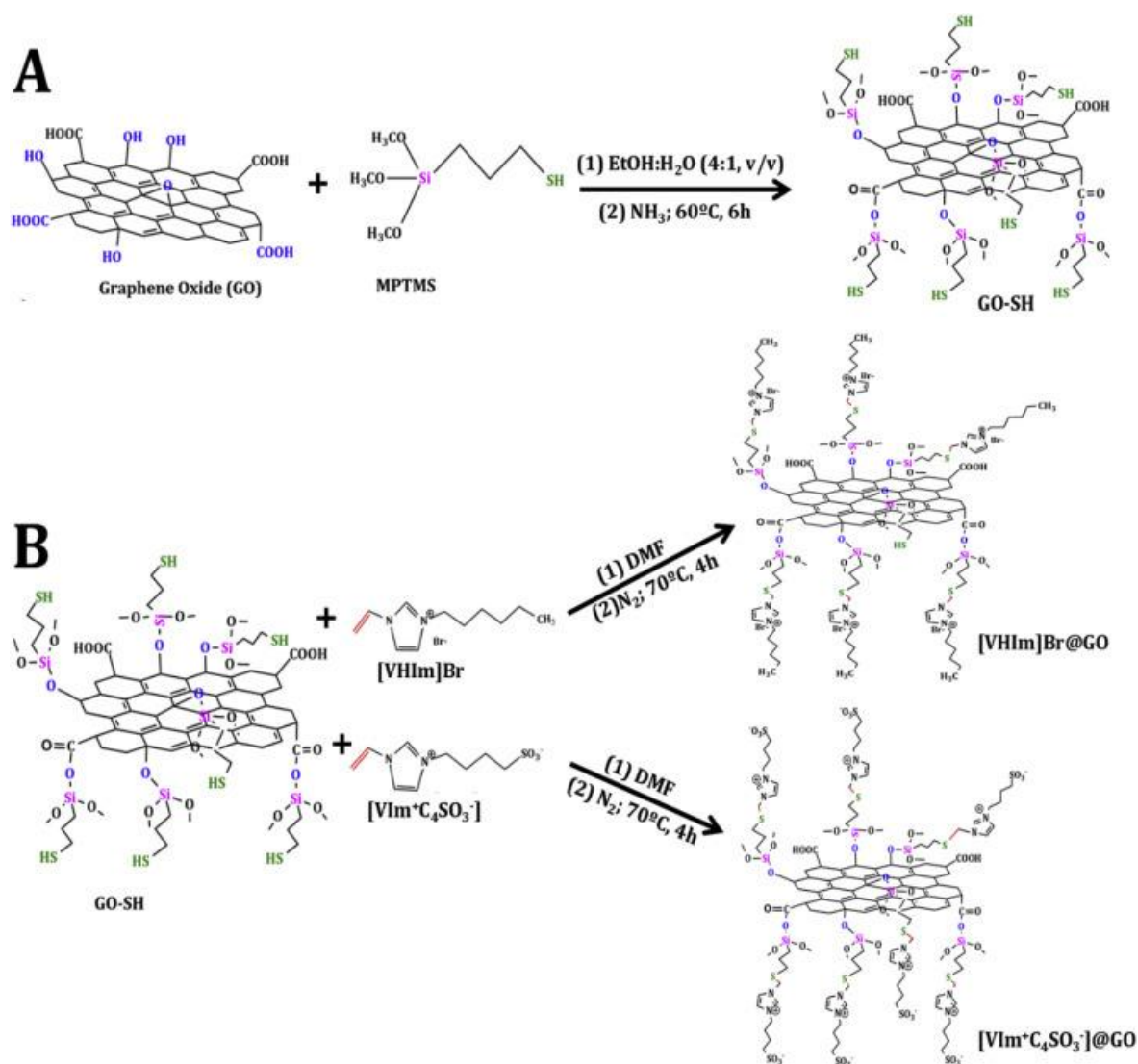


Figura 10 - (A) Modificação da superfície de GO com grupos tiol. (B) Ancoragem de líquidos iônicos preparados ao GO-SH. **Fonte:** CARDOSO; LANÇAS (2025)

Além da importância de um sorvente seletivo, em técnicas de extração em fase sólida é essencial que antes de ser utilizado no processo de extração, o sorvente passe por uma etapa de condicionamento. O condicionamento do sorvente é feito para garantir desempenho analítico

reprodutível, compatibilidade físico-química com a amostra e a máxima eficiência de extração (BIAN *et al.*, 2021). O processo é responsável pela ativação da superfície, ou solvatação, reativando grupos funcionais superficiais e aumentando a acessibilidade e seletividade dos sítios ativos (BIAN *et al.*, 2021). Além disto, o processo promove o equilíbrio químico, ajustando o pH da matriz, promovendo a eliminação de possíveis contaminantes adsorvidos e maximizando sua ação (ALSABBAHEN *et al.*, 2025). Geralmente o condicionamento é feito pela passagem do sorvente em solvente orgânico, seguido por passagem em água ou tampão (SKOOG; HOLLER; CROUCH, 2018). O solvente orgânico contribui para a ativação da superfície, e comumente utiliza-se metanol e acetonitrila; por sua vez, a água e o tampão ajustam a polaridade da matriz (SKOOG; HOLLER; CROUCH, 2018).

Óxido de grafeno modificado vêm recentemente sendo utilizado na extração de diferentes analitos (JOSHI *et al.*, 2021), como herbicidas (OLIVEIRA; LANÇAS, 2023), triazinas (CARDOSO; LANÇAS, 2025) e antibióticos (MARTINS; LANÇAS, 2024); no entanto, até o início do desenvolvimento do projeto não foram encontrados estudos da utilização de óxido de grafeno modificado com líquido iônico para a extração de parabenos, apenas a descrição da utilização de óxido de grafeno ancorado à aminopropilsílica para a extração de parabenos (FUMES; LANÇAS, 2017).

O presente trabalho busca investigar a presença de parabenos em cosméticos utilizando sorvente seletivo a base de óxido de grafeno, com o desenvolvimento e aprimoramento de princípios de extração baseados microextração por sorvente empacotado (MEPS) e microextração dispersiva em fase sólida (D- μ SPE) com detecção e quantificação por HPLC-MS/MS e HPLC-UV/Vis.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar, otimizar e aplicar óxido de grafeno modificado com líquidos iônicos (GO@IL) como sorvente para a extração de parabenos em amostras de cosméticos, empregando técnicas de microextração dispersiva em fase sólida (D- μ SPE) e microextração por sorvente empacotado (MEPS) seguido de separação e detecção por HPLC-MS/MS.

2.2 Objetivos específicos

- Preparar e empacotar dispositivos de extração por D- μ SPE e MEPS com sorventes baseados em GO@IL sintetizados pelo Grupo de Cromatografia (CROMA/IQSC-USP) e com materiais comerciais de referência para comparação de desempenho
- Comparar o desempenho e a seletividade dos métodos de extração por análises de HPLC-UV/Vis e determinar o sistema mais eficiente para extração de parabenos;
- Comparar a seletividade e eficiência e sorção dos materiais de GO@IL com sorventes comerciais, avaliando o efeito das modificações químicas do óxido de grafeno;
- Otimizar os parâmetros experimentais do método selecionado (quantidade de sorvente, solvente de dessorção, volume de solvente, tempo de extração, tempo de eluição, volume de amostra, equipamento de extração e volume de agitação);
- Determinar as figuras de mérito analítico do método otimizado;
- Aplicar o método otimizado a amostras reais de cosméticos adquiridos do comércio, avaliando a presença e os níveis de parabenos e confirmando a aplicabilidade prática da metodologia desenvolvida.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Materiais e equipamentos

3.1.1 Sorventes

Para este estudo foram utilizados sete sorventes distintos (**Tabela 1**), sendo cinco deles obtidos no Grupo de Cromatografia (CROMA) do Instituto de Química da USP campus São Carlos e dois dos sorventes obtidos comercialmente.

Tabela 1 - Sorventes utilizados nos ensaios de extração de parabenos via MEPS e D- μ SPE. *Utilizado apenas para extração via MEPS. **Fonte:** Elaborada pela autora.

Sorvente	Identificação	Origem
Óxido de grafeno puro	GO	IQSC-USP (CROMA)
Óxido de grafeno modificado com tiol*	GO-SH	IQSC-USP (CROMA)
Óxido de grafeno ancorado à aminopropilsílica*	GO@Si-ILz	IQSC-USP (CROMA)
Brometo de 1-vinil-3-hexilimidazolio@GO	[VHiM]Br@GO	IQSC-USP (CROMA)
1-vinil-3-(butil-4-sulfonato)imidazolio@GO	ViImC4S@GO	IQSC-USP (CROMA)

SPE DSC-18 Discovery [®]	C18	Comercial
Strata [™] -X-CW SPE Phenomenex [®]	Strata-X	Comercial

3.1.2 Parabenos e solução estoque

Os parabenos metilparabeno (MeP), etilparabeno (EtP), propilparabeno (PrP) e butilparabeno (BuP) utilizados foram obtidos da Sigma-Aldrich Co. LLC (St. Louis, MO, EUA). Esses compostos foram utilizados para a preparação de soluções estoque de cada um dos parabenos em metanol (MeOH) na concentração 1000 mg/L. A partir das soluções estoque foram preparadas soluções de trabalho na concentração de 200 ppb e amostras fortificadas, as quais foram preparadas semanalmente e armazenadas a -4 °C.

3.1.3 Preparo de amostras

Foram adquiridas amostras comerciais de hidratantes faciais de três marcas distintas, sabonetes líquidos de três marcas distintas e protetores solares de três marcas distintas. Todos foram adquiridos em estabelecimentos comerciais de São Carlos – SP, Brasil e nenhum dos produtos obtidos continha parabenos descrito na lista de ingredientes.

O preparo de amostras foi realizado utilizando o método reportado por KHEZELI; DANESHFAR; KARDANI (2023) com modificações. Para o preparo dos cosméticos hidratante e protetor facial, pesou-se 1 g de cosmético, o qual foi disperso e dissolvido em volume total de 10 mL de metanol (MeOH). Em seguida a solução foi sonicada por 25 minutos e o sobrenadante obtido foi filtrado em membrana de celulose 0,22 µm.

Os sabonetes líquidos faciais foram pesados para obter 1 g de produto, o qual foi dissolvido em 10 mL de água mili-Q e homogeneizado. Em seguida a amostra foi transferida para um balão volumétrico e completou-se o volume com água mili-Q até se obter um volume total de 100 mL. A amostra foi então filtrada em membrana de celulose 0,22 µm. Todas as amostras diluídas de cosméticos foram armazenadas a -4° C até sua utilização.

3.2 Equipamento e condições cromatográficas

As extrações realizadas para a otimização dos parâmetros foram realizadas em sistema HPLC-UV/Vis, por ser uma opção mais acessível financeiramente e demandar menos tempo; enquanto que a análise das figuras de mérito foi realizada em HPLC-MS/MS por apresentar maior sensibilidade e seletividade (CHIRIAC *et al.*, 2022; LEE *et al.*, 2017).

3.2.1 HPLC-UV/Vis

As análises de separação e detecção realizadas para a otimização dos parâmetros do método utilizaram sistema de cromatografia líquida com detector ultravioleta-visível (LC-UV/Vis) do modelo da Shimadzu Prominence LC-20AD (Quioto, Japão) e coluna analítica Cortecs™ T3 Column (120Å; 2,7 µm; 2,1 mm x 100 mm) da Waters™ (Co. Cork, Irlanda). As condições cromatográficas foram estabelecidas utilizando método isocrático sob as condições: fluxo de 0,25 mL/min, fase móvel de 35% de acetonitrila (ACN) e 65% de água destilada, λ 254 nm, temperatura do forno a 40 °C e injeção de 1 µL.

3.2.2 HPLC-MS/MS

As análises das figuras de mérito foram realizadas em um sistema Acquity MClass UPLC-MS/MS acoplado a um espectrômetro de massas XEVO TQ-S micro da Waters™ (Milford, MA, EUA) com ionização por electrospray (ESI) em modo negativo (ESI-). A coluna de extração utilizada foi a mesma utilizada para as análises em HPLC-UV/Vis. As condições do equipamento foram de fluxo de 0,200 mL/min, fase móvel de 40% de acetonitrila (ACN) e 60% de água mili-Q, temperatura do forno em 40 °C, temperatura do carrinho de amostras de 20°C e injeção de 0,200 µL.

3.3 Métodos de extração: MEPS e D-µSPE

Realizou-se extrações por meio da técnica de microextração por sorvente empacotado (MEPS), utilizando todos os sorventes disponíveis e pela técnica de microextração dispersiva em fase sólida (D-µSPE), utilizando os mesmos sorventes, exceto GO@Si-ILz. As extrações por ambos os métodos foram realizadas utilizando padrões dos parabenos: metilparabeno (MeP), etilparabeno (EtP), propilparabeno (PrP) e butilparabeno (BuP). As extrações por ambos os métodos foram realizadas utilizando um padrão 200 ppb de mix dos parabenos MeP, EtP, PrP e BuP preparado a partir das soluções estoque.

A microextração por sorvente empacotado (MEPS) foi realizada em triplicata utilizando microseringas de insulina de 1 mL, as quais foram empacotadas com 5 mg dos materiais sorventes analisados entre dois ‘frits’ de polipropileno. A seringa foi então condicionada utilizando 500 µL de acetonitrila e 4 ciclos de aspiração. Em seguida foram realizadas as seguintes etapas de extração (**Figura 11**):

- 1) Amostragem: 6 ciclos de aspiração/expulsão de 500 µL de água destilada fortificada com mix de 200 ppb dos quatro parabenos

- 2) Secagem: 4 ciclos de aspiração/expulsão de ar
- 3) Lavagem: 3 ciclos de aspiração/expulsão de 500 μL de água deionizada
- 4) Dessorção/Eluição: 6 ciclos de aspiração/expulsão utilizando 75 μL de acetonitrila; coletar a amostra.

Após a etapa de dessorção, a amostra foi coletada e, em seguida, foi realizada uma etapa de regeneração. A regeneração foi realizada com 4 ciclos de aspiração/expulsão de 250 μL de acetonitrila, seguido por 4 ciclos de aspiração/expulsão de 500 μL de água deionizada; essas etapas foram realizadas duas vezes.

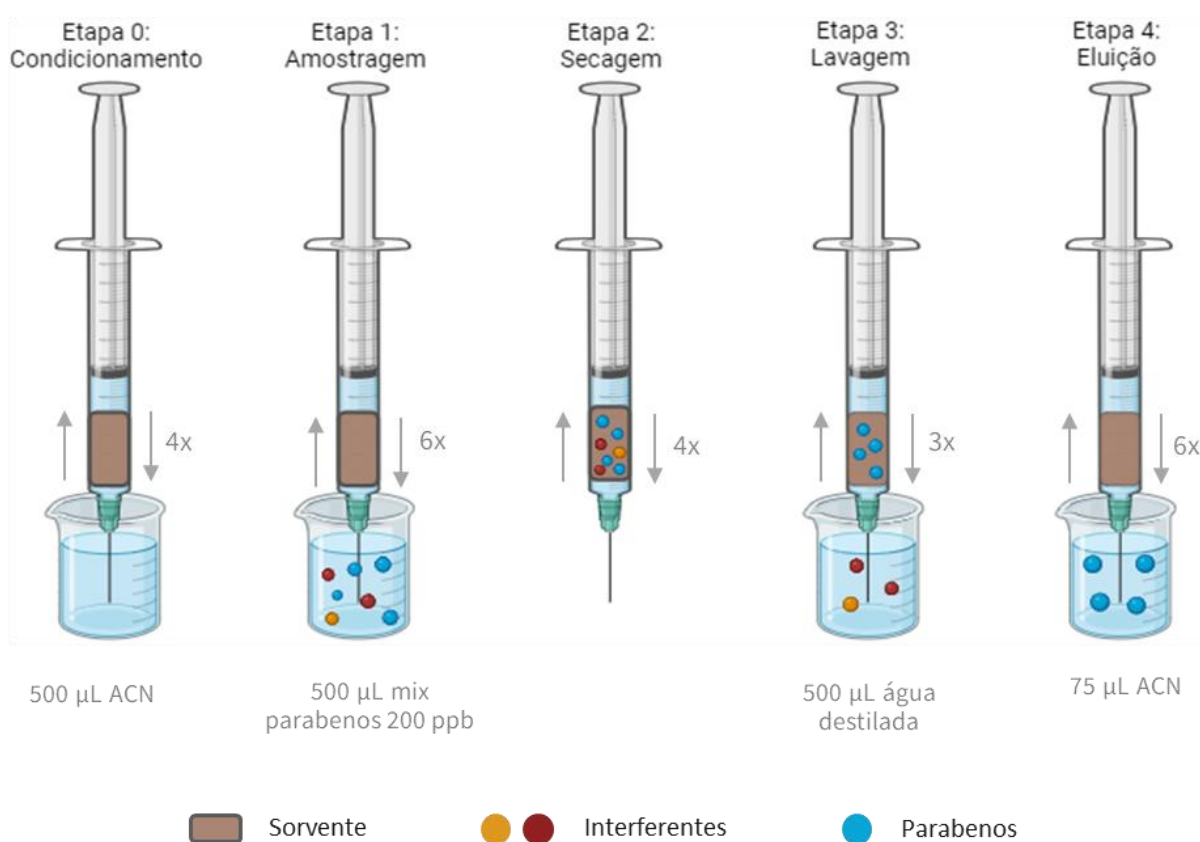


Figura 11 - Etapas do processo MEPS. **Fonte:** Elaborada pela autora utilizando o software BioRender.

Posteriormente, a separação cromatográfica da amostra coletada foi feita por sistema de cromatografia líquida com detector ultravioleta-visível (LC-UV/Vis) (Shimadzu, LC20-AD), seguindo o método de separação descrito anteriormente (3.2.1)

A microextração dispersiva em fase sólida (D- μSPE) foi realizada em duplicata com 5 mg de cada sorvente em eppendorf de 2 ml. O condicionamento do sorvente foi feito de acordo com as seguintes etapas: 1) adição de 1 ml de etanol e deixando o eppendorf por 5 minutos em ultrassom; 2) centrifugação a 1400 rpm por 10 minutos; 3) retirada do sobrenadante; 4) adição de 1 ml de água e 5 minutos em ultrassom; 5) centrifugação a 1400 rpm 10 minutos; 6) retirada

do sobrenadante; 7) adição de 1 ml de água e 5 minutos em ultrassom; 8) centrifugação a 1400 rpm 10 minutos; 9) retirada do sobrenadante. O processo é exemplificado na **Figura 12**.

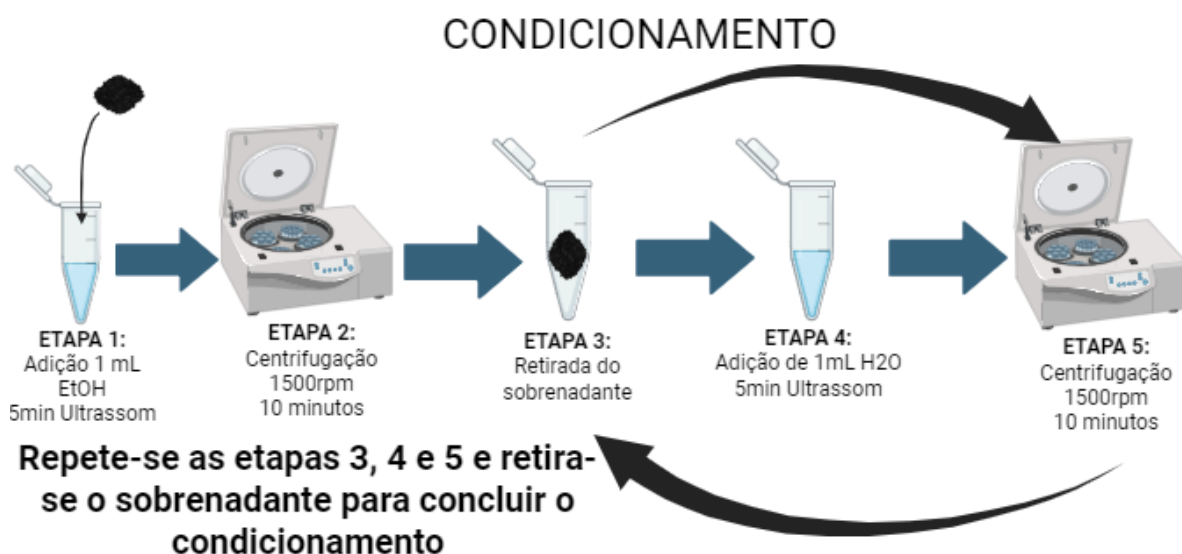


Figura 12 - Processo visual das etapas de condicionamento do sorvente. **Fonte:** Elaborada pela autora utilizando o software BioRender.

Após o condicionamento do sorvente, realizou-se as seguintes etapas de extração: 1) adição de 2 ml de solução padrão em água 200 ppb do mix de parabenos (MeP, EtP, PrP e BuP); 2) agitação dos eppendorfs em vortex a 1500 rpm por 5 minutos; 3) centrifugação dos eppendorfs a 1400 rpm por 5 minutos; 4) descarte do sobrenadante; 5) adição de 1 ml de acetonitrila (ACN); 6) agitação dos eppendorfs em vortex a 1500 rpm por 5 minutos; 7) centrifugação dos eppendorfs a 1400 rpm por 5 minutos; 8) coleta do sobrenadante e filtração e membrana de celulose 0,45 μm (**Figura 13**). A amostra coletada da separação por D- μ SPE foi analisada por cromatografia líquida com detector ultravioleta-visível (LC-UV/Vis), seguindo o mesmo método de separação utilizado para as amostras de MEPS (**3.2.1**).

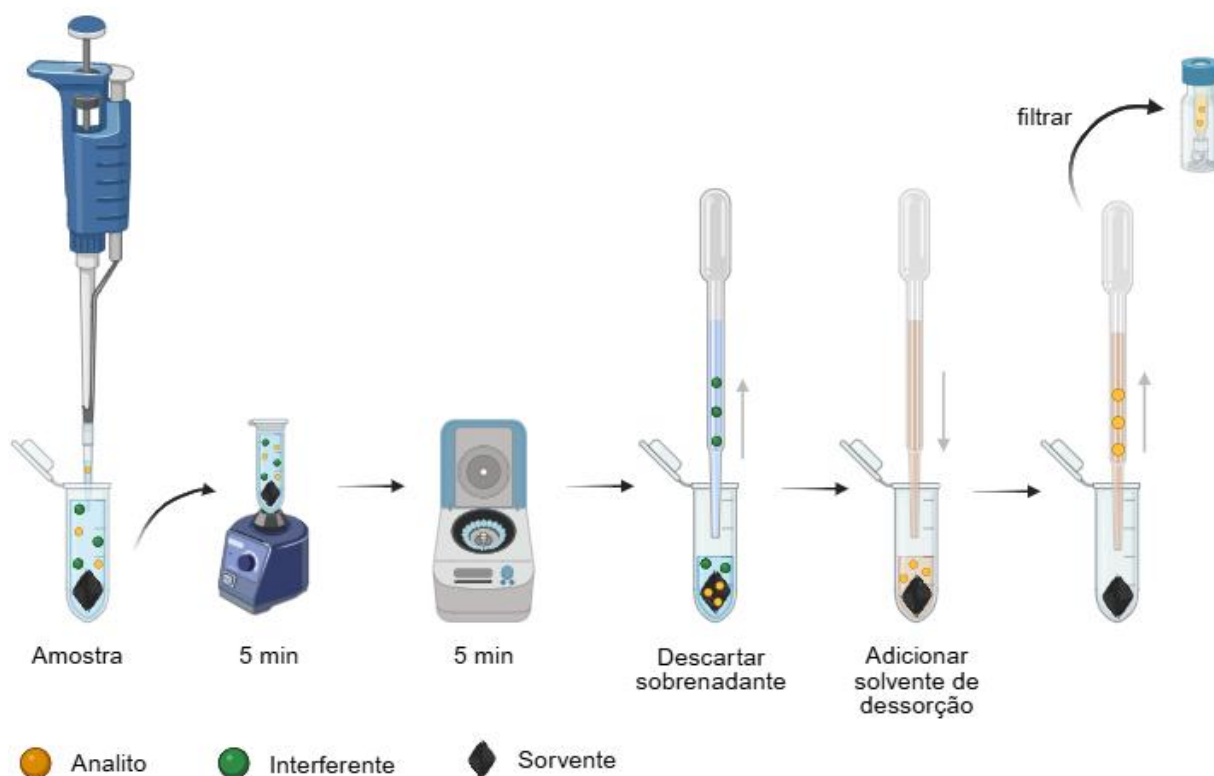


Figura 13 - Etapas do processo de Microextração Dispersiva em Fase Sólida (D- μ SPE). **Fonte:** Elaborada pela autora utilizando o software BioRender.

3.4 Avaliação da capacidade extratora dos sorventes obtidos

Foi avaliada, por HPLC-UV/Vis, a capacidade extratora dos sorventes óxido de grafeno puro (GO), brometo de 1-vinil-3-hexilimidazolio@GO ([VHiM]Br@GO), e 1-vinil-3-(butil-4-sulfonato)@GO (ILz@GO), Discovery[®] DSC-18 SPE (C18) e Strata[™]-X-CW Phenomenex[®] quanto a extração dos parabenos MeP, EtP, PrP e BuP por microextração dispersiva em fase sólida (D- μ SPE).

Os dispositivos de extração por D- μ SPE foram preparados em duplicata, adicionando 5 mg de cada sorvente em eppendorfs de 2 ml. O condicionamento dos sorventes foram realizados seguindo as etapas descritas no item anterior (3.3). Após a etapa de condicionamento, adicionou-se em cada eppendorf 1 ml de solução padrão em água 200 ppb do mix de parabenos (MeP, EtP, PrP e BuP) e centrifugou-se os eppendorfs a 1400 rpm por 10 minutos, sendo o sobrenadante coletado e filtrado em membrana de celulose 0,45 μ m ao final do procedimento.

As separações das amostras foram realizadas em triplicata, em sistema HPLC-UV/Vis, utilizando coluna Waters Cortecs[™] T3, de acordo com as condições descritas anteriormente.

A capacidade extratora de cada sorvente foi avaliada quanto a porcentagem de recuperação dos analitos analisados (MeP, EtP, PrP e BuP) em cada amostra, a qual foi calculado com a seguinte equação:

$$Eficiência\ da\ extração\ (\%) = \frac{Área\ analito\ extraído}{Área\ padrão} \times 100$$

Equação 1 - Porcentagem da eficiência de extração dos analitos. Área - área do pico cromatográfico.

A área da amostra pura foi obtida através da cromatografia em triplicata da amostra da solução padrão em água 200 ppb do mix de parabenos (MeP, EtP, PrP e BuP).

3.5 Curvas de calibração

Foram construídas curvas analíticas para cada parabenos considerando a relação entre o sinal e a concentração de cada amostra, considerando sete concentrações diferentes. A linearidade da curva foi avaliada pelo coeficiente de determinação (R^2) por *fitting* linear.

O método de extração utilizado foi realizado pelo procedimento de extração por D- μ SPE (3.3). E realizado por ambos os equipamentos de separação cromatográficos (HPLC-UV/Vis e HPLC-MS/MS), em níveis de magnitude distintas.

A curva de calibração de cada parabenos em solvente por HPLC-UV/Vis foi construída com soluções padrões de parabenos em ACN (preparados a partir das soluções estoque) de 100, 300, 500, 800, 1000, 3000 e 5000 ppb.

As concentrações de parabenos nas soluções padrões em ACN utilizadas para a construção da curva de calibração por HPLC-MS/MS foram: 10, 20, 50, 100, 200 e 500 ppb.

As extrações foram feitas em triplicata e a cromatografia de cada uma delas, também, em triplicata.

3.6 Otimização dos parâmetros

O método de extração D- μ SPE foi otimizado quanto aos parâmetros descritos na **Tabela 2**. Os parâmetros analisados foram avaliados utilizando um planejamento univariado (one factor at time – OFAT).

Tabela 2 - Parâmetros otimizados do método por extração D- μ SPE. **Fonte:** Elaborada pela autora.

Parâmetro	Níveis
-----------	--------

Quantidade de sorvente	5, 10, 15 mg
Solvente de dessorção	ACN, MeOH, ACN:MeOH (50:50), EtOH, ACN + AcF 0,1%
Quantidade de solvente	500, 750, 1000 μ L
Tempo de extração	3, 5, 7, 10 minutos
Tempo de eluição	3, 5, 7, 10 minutos
Volume de amostra	750, 1000, 1500 μ L
Equipamento de extração	Vortex, Ultrassom
Velocidade de agitação da extração	750, 1000, 1500 rpm

Os parâmetros foram analisados sequencialmente, na ordem descrita na **Tabela 2**. Ou seja, foi analisado um parâmetro por vez e as extrações seguintes deram continuidade com o parâmetro já otimizado de acordo com os resultados obtidos e assim, o método foi adaptado a cada análise dos parâmetros.

As extrações para análise da quantidade de sorvente foram realizadas seguindo as seguintes etapas:

- 1) Pesar as quantidades de sorvente (5, 10 e 15 mg) em triplicata;
- 2) Adicionar o sorvente ao eppendorf de com 1500 μ L de amostra;
- 3) Vortexar o eppendorf por 5 minutos a 1500 rpm;
- 4) Centrifugar o eppendorf por 5 minutos a 1400 rpm;
- 5) Descartar o sobrenadante;
- 6) Adicionar ao eppendorf 1000 μ L de ACN:MeOH (50:50);
- 7) Colocar o eppendorf em ultrassom por 5 minutos;
- 8) Centrifugar o eppendorf por 5 minutos a 1400 rpm;
- 9) Coletar e filtrar o sobrenadante em membrana de celulose 0,45 μ m.

Sendo assim, as condições padrões iniciais foram: solvente de dessorção ACN:MeOH (50:50); 1000 μ L de solvente de dessorção; extração de 5 minutos; eluição de 5 minutos; 1500 μ L de amostra e extração em vórtex a 1000 rpm. As condições da extração foram alteradas após

a análise de cada parâmetro, dando continuidade na extração com o parâmetro de acordo com o nível que apresentou maior recuperação dos analitos.

As extrações variando os parâmetros de acordo com a **Tabela 2** foram feitas em duplicata, assim como a corrida do extrato final das extrações. As separações e quantificações foram realizadas em HPLC-UV/Vis, sob as condições descritas anteriormente (3.2.1). A avaliação dos parâmetros foi realizada analisando a média da porcentagem de recuperação dos analitos analisados (MeP, EtP, PrP e BuP) de acordo com a **Equação 1**, a qual foi calculada utilizando as áreas dos picos obtidos nos cromatogramas.

3.7 Análise das principais figuras de mérito

Para o método de D- μ SPE para parabenos, foram analisadas as figuras de mérito: seletividade, limite de detecção (LOD), limite de quantificação (LOQ), linearidade, recuperação, precisão (intra e inter dias) e efeito matriz (EM). Os parâmetros foram avaliados com base em amostras de sabonete líquido facial em branco e fortificado a 200 ppb. As extrações realizadas para análise das figuras de mérito foram realizadas em duplicata e analisadas em HPLC-MS/MS em triplicata.

A seletividade foi analisada através da comparação de amostras de sabonete líquido facial em branco após a extração por D- μ SPE, com amostras fortificadas com parabenos 200 ppb em água e em sabonete.

Para a avaliação da linearidade, foram feitas extrações de amostras de sabonete fortificadas com parabenos em cinco níveis de concentração e avaliou-se o coeficiente de determinação (R^2) das curvas obtidas. As concentrações analisadas de cada parabeno estão descritas na **Tabela 3**, sendo que a menor concentração de cada parabeno analisada corresponde ao LOQ, determinado anteriormente. A corrida no HPLC-MS/MS de cada amostra foi feita em triplicata. A avaliação da linearidade foi realizada através do coeficiente de determinação (R^2).

Tabela 3 - Concentrações dos analitos utilizadas para curva de calibração. **Fonte:** Elaborada pela autora.

Analito	Concentrações analisadas (ppb)				
MetilParabeno (MeP)	0,9	5,0	10,0	20,0	50,0
EtilParabeno (EtP)	2,5	5,0	10,0	20,0	50,0
PropilParabeno (PrP)	1,0	5,0	10,0	20,0	50,0
ButilParabeno (BuP)	4,0	5,0	10,0	20,0	100,0

A precisão foi analisada intra e inter dias através do desvio padrão relativo (DPR). Para os testes de precisão, foram utilizadas as equações:

$$\bar{x} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i$$

Equação 2 - Média (\bar{x}). x_i - valor do sinal de ruído i . n - número de medições.

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

Equação 3 - Desvio padrão (σ). x_i - valor do sinal de ruído i . \bar{x} - média dos valores de sinal de ruído. n - número de medições.

$$CV (\%) = \frac{\sigma}{\bar{x}} \times 100$$

Equação 4 - Coeficiente de variância (CV). σ - desvio padrão das medições. \bar{x} - média dos valores de sinal de ruído.

Para os testes de recuperação foi comparado no teste fortificado o valor adicionado pelo medido:

$$Recuperação_{Pré/Pós} (\%) = \frac{\text{Área}_{\text{Matriz pré-extração}}}{\text{Área}_{\text{Matriz pós-extração}}} \times 100$$

Equação 5 - Recuperação. Área - área do pico cromatográfico.

Os parâmetros recuperação e precisão foram avaliados através da análise de amostras de sabonete fortificadas com parabenos em três níveis de concentração diferentes (5, 10 e 50 ppb), em triplicata. A recuperação foi avaliada em termos de porcentagem de recuperação dos analitos da solução fortificada e extraídas por D- μ SPE (**Equação 5**).

O valor de LOD foi definido como a concentração do analito que gerasse um sinal 3 vezes maior do que a relação sinal/ruído (S/N); enquanto valor de LOQ seria a menor concentração que produzisse um sinal 10 vezes maior que S/N. O cálculo da relação S/N foi elaborado pelo *software* Mass Lynx em que considera a altura do pico em relação ao desvio padrão do ruído (RMS) expresso na (**Equação 8**).

$$LOD = C_{teste} \times \frac{3}{(S/N)_{teste}}$$

Equação 6 - Limite de detecção (LOD). C - Concentração conhecida da amostra. S/N - relação sinal/ruído medida para a amostra de concentração conhecida.

$$LOQ = C_{teste} \times \frac{10}{(S/N)_{teste}}$$

Equação 7 - Limite de quantificação (LOQ). C - Concentração conhecida da amostra. S/N - relação sinal/ruído medida para a amostra de concentração conhecida.

$$\frac{S}{N} = \frac{H_{pico}}{N_{ruído}}$$

Equação 8 - Relação sinal/ruído (S/N). H - altura do pico cromatográfico (intensidade do sinal). N – desvio padrão do sinal do ruído (RMS).

Para avaliar o efeito matriz, foi considerado o paralelismo entre as retas da curva de calibração em solvente (ACN e água destilada, 40:60) e nas matrizes sabonete líquido, hidratante facial e protetor solar facial, sendo calculado de acordo com a **Equação 9**, considerando a inclinação da curva de calibração da extração de solvente fortificado e da matriz fortificada com parabenos. As concentrações dos parabenos utilizadas na matriz e no solvente estão descritas na **Tabela 4**, sendo que as menores concentrações de cada parabenos corresponderam ao LOD de cada analito, obtido anteriormente.

$$EM (\%) = \left(\frac{b_{matriz}}{b_{solvente}} - 1 \right) \times 100$$

Equação 9 - Efeito matriz (EM) (Coeficiente angular da matriz pelo do solvente). b - inclinação da curva analítica.

Tabela 4 - Concentrações dos analitos utilizadas para a construção das curvas analíticas para avaliação do efeito matriz. **Fonte:** Elaborada pela autora.

Analito	Concentrações analisadas (ppb)						
Metilparabeno (MeP)	0,9	2,0	5,0	8,0	10,0	20,0	50,0
Etilparabeno (EtP)	2,5	3,0	5,0	8,0	10,0	20,0	50,0
Propirilparabeno (PrP)	1,0	3,0	5,0	8,0	10,0	20,0	50,0
Butilparabeno (BuP)	4,0	5,0	8,0	10,0	20,0	50,0	100,0

3.8 Aplicação da técnica em amostras reais

O método desenvolvido e otimizado foi aplicado em amostras reais de cosméticos de sabonetes, hidratantes e protetores faciais provindos de estabelecimentos comerciais da cidade de São Carlos – SP.

O preparo das amostras de cosméticos para a extração foi feito de maneira adaptada de KHEZELI; DANESHFAR; KARDANI (2023), como descrito anteriormente (3.1.3). As extrações foram feitas em triplicata, assim como a análise em HPLC-MS/MS. Posteriormente os cromatogramas foram analisados para verificar se havia presença dos parabenos analisados.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Métodos de extração e avaliação da capacidade extratora dos sorventes

A extração por MEPS foi realizada com grandes dificuldades de aspiração e expulsão, devido a agregação e compactação dos sorventes, sendo que muitas vezes não era possível aspirar a quantidade definida ou então não era possível aspirar nenhum volume de solvente. A extração por MEPS com o sorvente GO não foi finalizada, pois as funções de aspiração e expulsão da seringa ficaram totalmente comprometidas e não foi possível aspirar nem expulsar nenhum volume de líquido. Essa limitação é citada por outros autores, principalmente em relação ao grafeno puro (CARDOSO; MARTINS; LANÇAS, 2024).

Dessa forma, para o método de extração por MEPS, foi avaliada a capacidade extratora dos sorventes: GO-SH, GO@Si-ILz, [VHiM]Br@GO, ViImC4S@GO, C18 e Strata-X. A capacidade extratora foi avaliada quanto a área do pico de cada parabeno obtido na cromatografia (**Figura 14**).

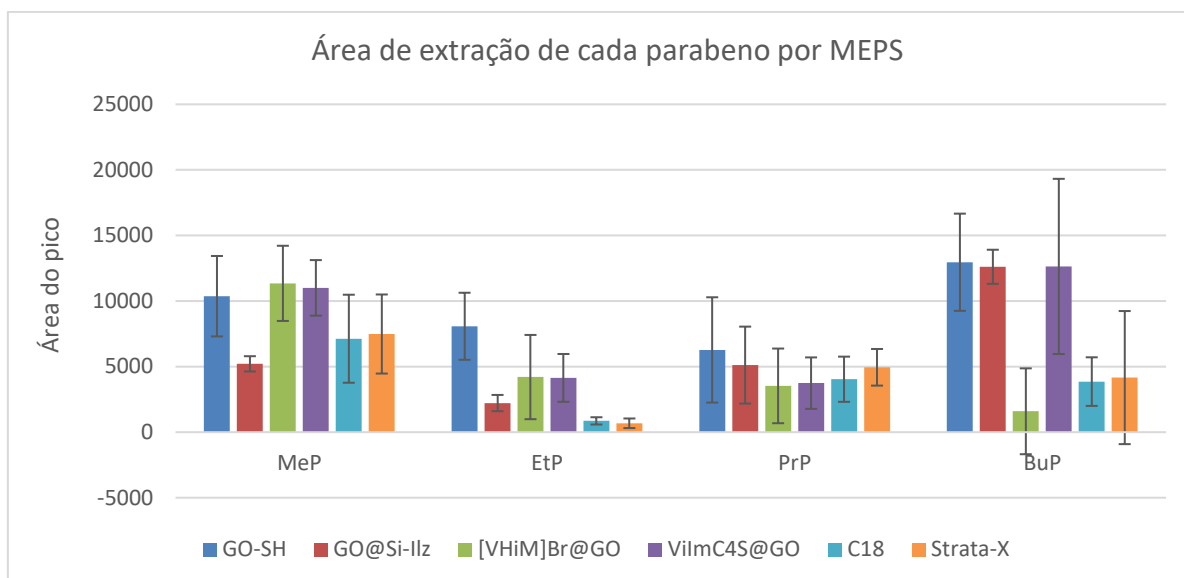


Figura 14 - Avaliação da capacidade extratora de cada sorvente em relação aos parabenos MeP, ETP, PrP e BuP pela técnica de MEPS. **Fonte:** Elaborada pela autora.

Os resultados da capacidade extratora pelo método de MEPS (**Figura 14**) apresentou barras de erro grande em decorrência da inconsistência do processo de extração, que foi realizado com dificuldade, o que levou a uma baixa reprodutibilidade. Dessa forma, a extração por MEPS com os sorventes analisados foi descartada.

A extração pela técnica de D- μ SPE foi realizada de forma eficiente, não havendo problemas com os sorventes. Diante disso, esse trabalho seguiu o estudo da extração de parabenos pela técnica de D- μ SPE.

A capacidade extratora dos sorventes GO, [VHiM]Br@GO, ViImC4S@GO, C18 e Strata-X pela técnica de D- μ SPE foi analisada através da eficiência da extração dos parabenos MeP, EtP, PrP e BuP, sendo os resultados apresentados na **Figura 15**.

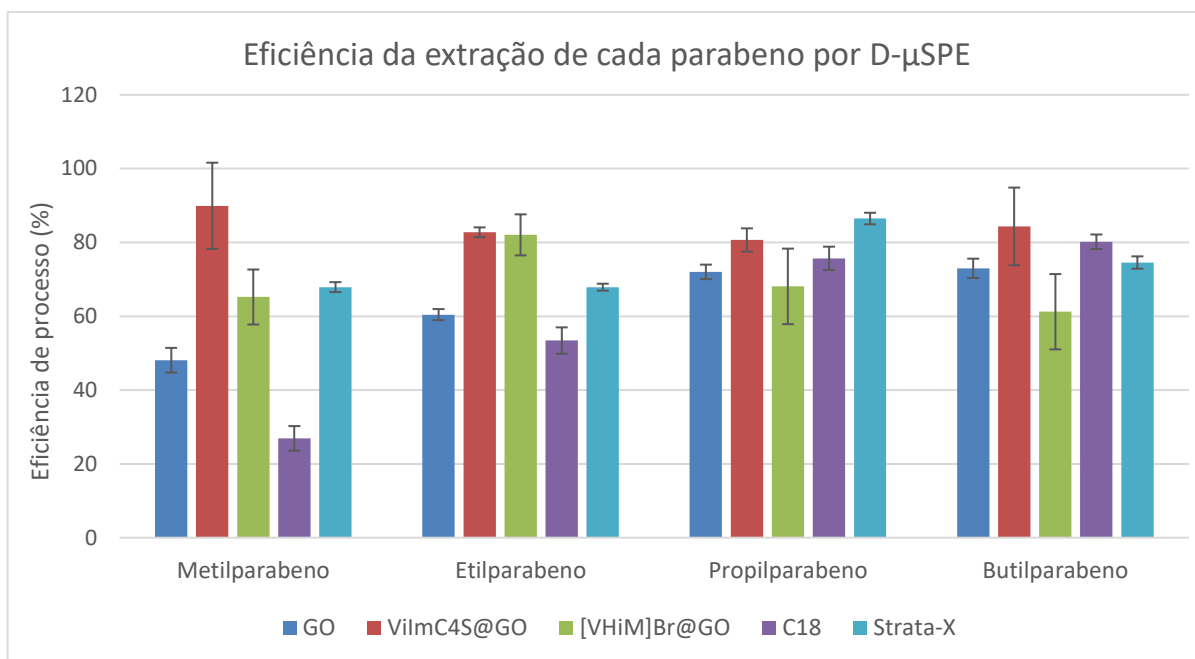


Figura 15 - Eficiência da extração de cada sorvente em relação aos parabenos MeP, ETP, PrP e BuP pela técnica de D-μSPE. **Fonte:** Elaborada pela autora.

Para os analitos MeP, EtP e BuP, o sorvente ViImC4S@GO foi o que apresentou maior porcentagem de recuperação, apresentando os valores de 89,92%, 82,76% e 84,35% respectivamente para cada analito. Em relação ao PrP, o sorvente comercial Strata-X foi que apresentou maior recuperação (86,47%), seguido pelo ViImC4S@GO (80,65%).

Sendo assim, as etapas seguintes prosseguiram com a utilização de ViImC4S@GO como sorvente, uma vez que apresentou a melhor porcentagem de recuperação para MeP, EtP e BuP; e uma alta porcentagem de recuperação para o PrP.

A faixa de trabalho do processo e extração encontra-se entre 80 % e 120 %, a qual é considerada adequada de acordo RDC 166/2017.

4.2 Método do HPLC-UV/Vis

As curvas de calibração obtidas de cada analito em ACN estão demonstradas na **Figura 16**, sendo que os coeficientes de determinação (R^2) obtidos foram todos superiores a 0,990, indicando excelente linearidade nas faixas de concentração analisadas. (**Tabela 5**).

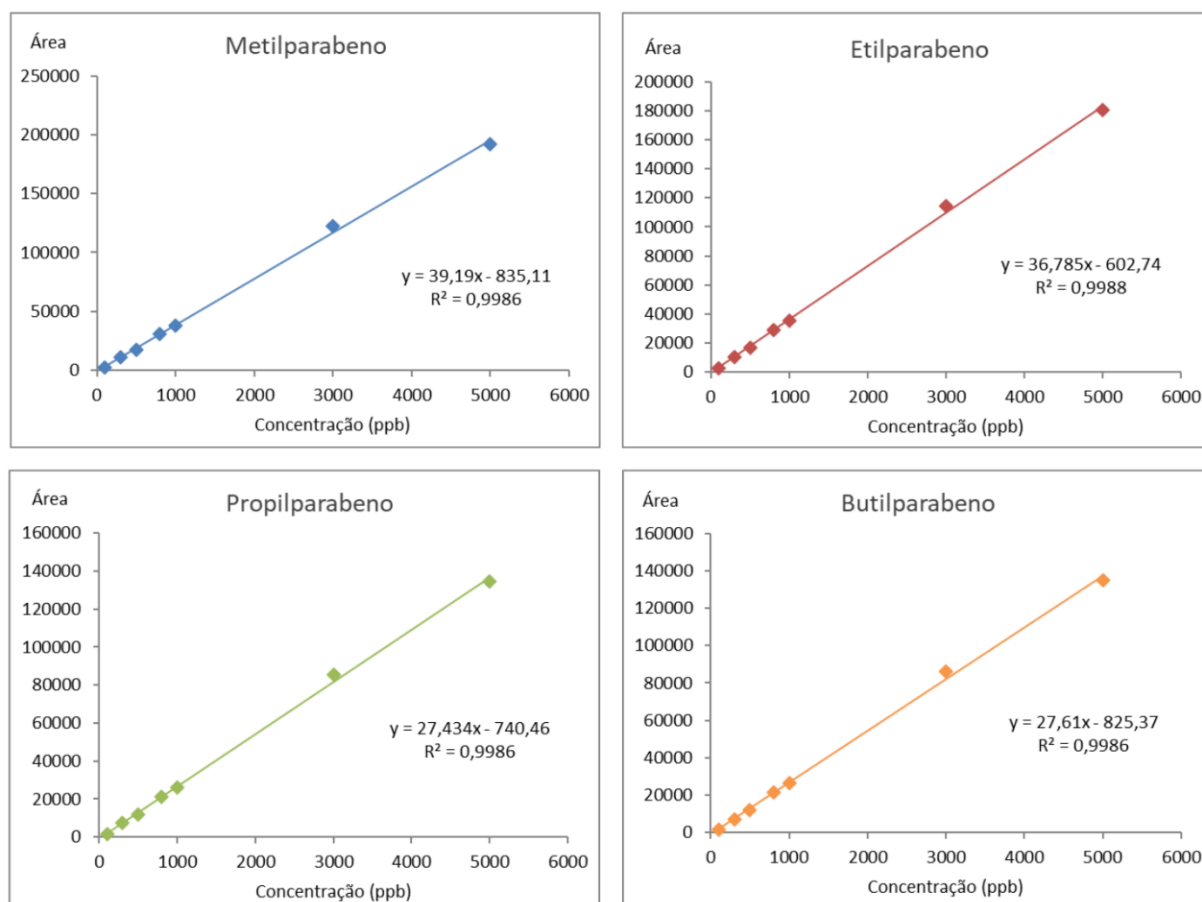


Figura 16 - Curva de calibração dos analitos MeP, EtP, PrP e BuP realizada em HPLC-UV/Vis. **Fonte:** Elaborada pela autora.

Tabela 5 - Curva de calibração dos analitos MeP, EtP, PrP e BuP realizada em HPLC-UV/Vis.

Fonte: Elaborada pela autora.

Analito	Equação da reta	R ²
Metilparabeno	$y = 39,19x - 835,11$	0,9986
Etilparabeno	$y = 36,785x - 602,74$	0,9988
Propilparabeno	$y = 27,434x - 740,46$	0,9986
Butilparabeno	$y = 27,61x - 825,37$	0,9986

R²: coeficiente de determinação

4.3 Otimização dos parâmetros

4.3.1 Quantidade de sorvente

Foram analisadas extrações por D- μ SPE utilizando 5, 10 e 15 mg do sorvente ViImC4S@GO, as quais foram analisadas em relação a área do pico obtido na cromatografia

(Figura 17). As extrações realizadas utilizando 15 mg de sorvente apresentaram maior área para MeP, EtP e PrP (24570,0; 2467,5 e 18615,0 respectivamente), indicando que foi a quantidade capaz de extrair maior quantidade desses analitos. A extração com maior quantidade de sorvente tende a apresentar maior eficiência de extração, desde que o sistema não tenha atingido o equilíbrio ou a saturação e ainda haja sítios ativos disponíveis para interagir com o analito (SEMENOV; KOZIEL; PAWLISZYN, 2000).

A extração de BuP foi mais eficiente utilizando-se 5 mg de sorvente, no entanto, as extrações com 5 e 15 mg de sorvente apresentaram resultados próximos, com áreas de 18.390,5 e 17.236,5. Após a saturação do sistema, a extração pode ser prejudicada pelo excesso de sorvente, devido à dificuldade de dessorção completa do analito (SEMENOV; KOZIEL; PAWLISZYN, 2000), no entanto, há diversos outros fatores que também interferem na eficiência de extração, como pH, temperatura, força iônica, adição de sal (MARANATA; SURYA; HASANAH, 2021; SUN *et al.*, 2016).

Diante dos resultados, decidiu-se dar continuidade nos experimentos utilizando-se 15 mg do sorvente ViImC4S@GO.

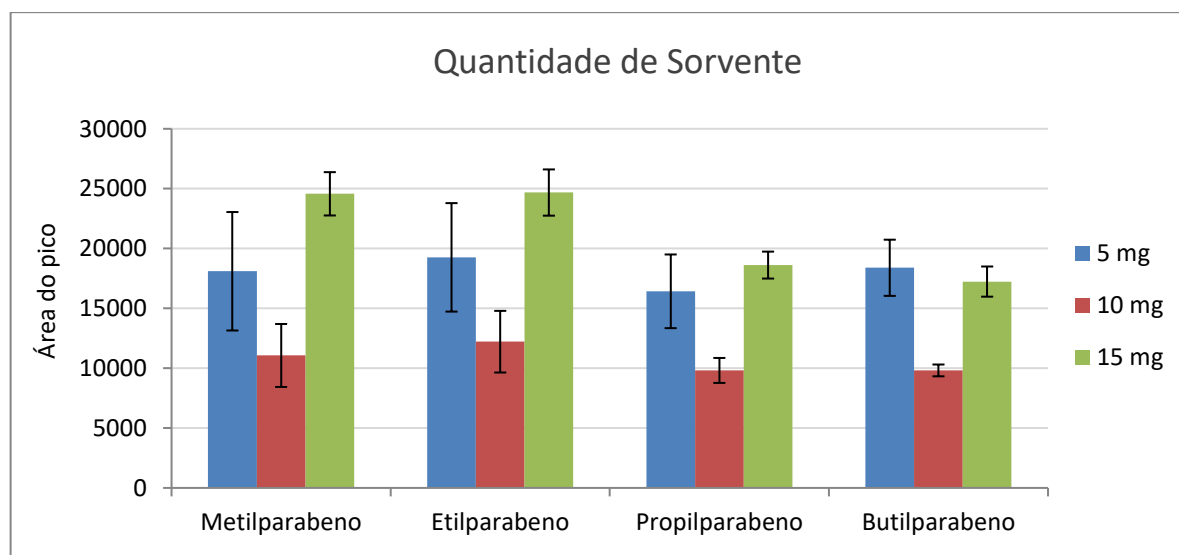


Figura 17 - Avaliação da quantidade de sorvente ViImC4S@GO utilizado na extração de parabenos. **Fonte:** Elaborada pela autora.

4.3.2 Solvente de dessorção

Os solventes da etapa de dessorção analisados foram: acetonitrila (ACN), metanol (MeOH), acetonitrila e metanol 50:50 (v/v) (ACN:MeOH 50:50 v/v), etanol (EtOH) e acetonitrila com ácido fórmico 0,1% (ACN + AcF 0,1%). Os resultados das áreas dos picos obtidos nos cromatogramas estão apresentados na **Figura 18**.

Para os analitos MeP, EtP, PrP, a solução de acetonitrila e ácido fórmico (0,1%) apresentou maior área, indicando que foi o melhor solvente de dessorção para esses analitos. As áreas dos analitos MeP, EtP, PrP e BuP utilizando ACN + AcF 0,1% como solvente de dessorção foram respectivamente 11215,5; 12613,0 e 10591,0.

A extração de BuP foi mais eficiente utilizando acetonitrila, acetonitrila:metanol (50:50) e acetonitrila com ácido fórmico (0,1%) respectivamente, no entanto, esses três solventes apresentaram resultados semelhantes com áreas de 9024,5; 8731,0; 8258,5.

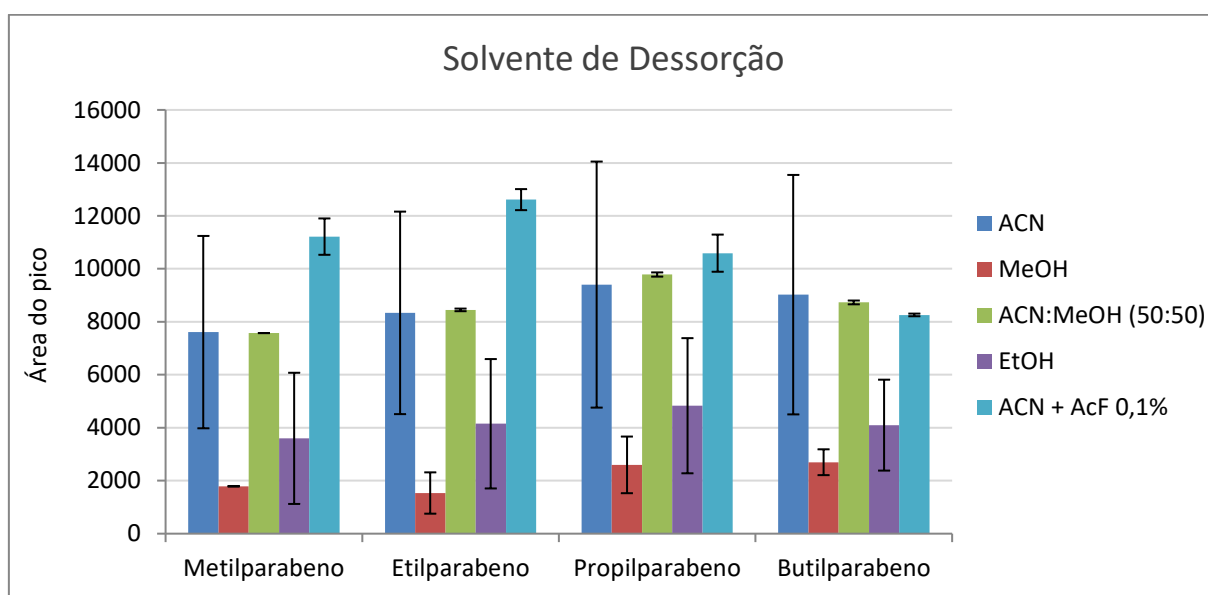


Figura 18 - Avaliação de diferentes solventes de dessorção na extração de parabenos por D- μ SPE. **Fonte:** Elaborada pela autora.

4.3.3 Quantidade de solvente

Foram avaliadas extrações de parabenos utilizando 500, 750 e 1000 μ L do solvente de dessorção acetonitrila com ácido fórmico (0,1%), sendo as áreas dos picos obtidas na cromatografia apresentados na **Figura 19**. A extração com 750 μ L de solvente gerou maiores áreas para os quatro parabenos analisados (MeP: 48061; EtP: 31082; PrP: 23940; BuP: 19195), indicando melhor extração dos analitos avaliados, além de apresentar baixo desvio padrão.

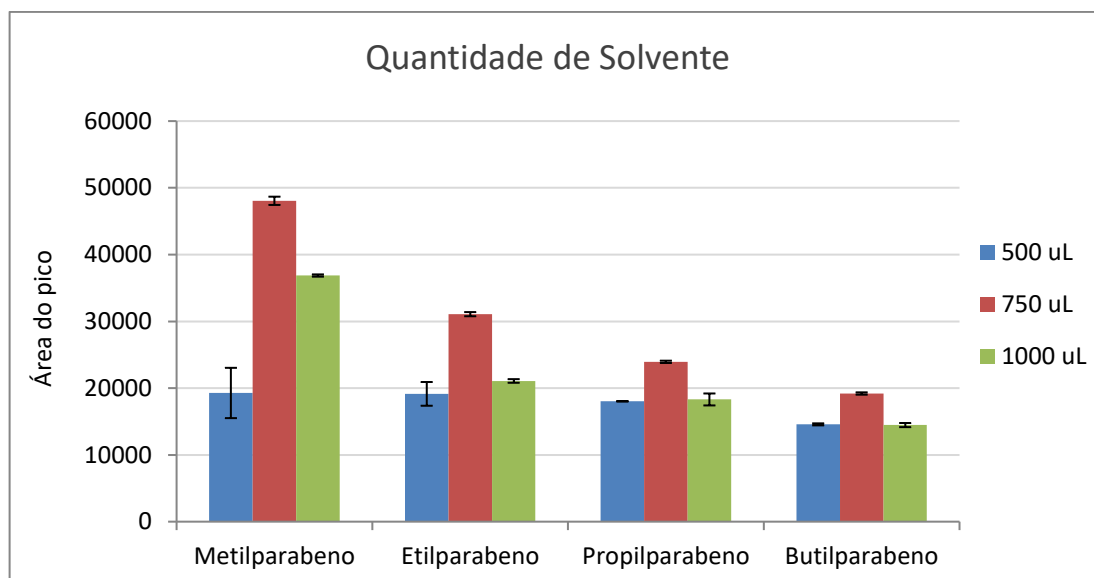


Figura 19 - Avaliação da quantidade de solvente (ACN + AcF 0,1%) na extração de parabenos por D- μ SPE. **Fonte:** Elaborada pela autora.

4.3.4 Tempo de extração

Foram avaliados diferentes tempos de extração, 3, 5, 7 e 10 minutos (**Figura 20**). O procedimento realizado com 10 minutos na etapa de extração foi o que permitiu maior extração dos quatro parabenos analisados (MeP: 22970; EtP: 23780; PrP: 26052,5; BuP: 22113). Dessa forma, deu-se prosseguimento no procedimento, utilizando 10 minutos para a extração.

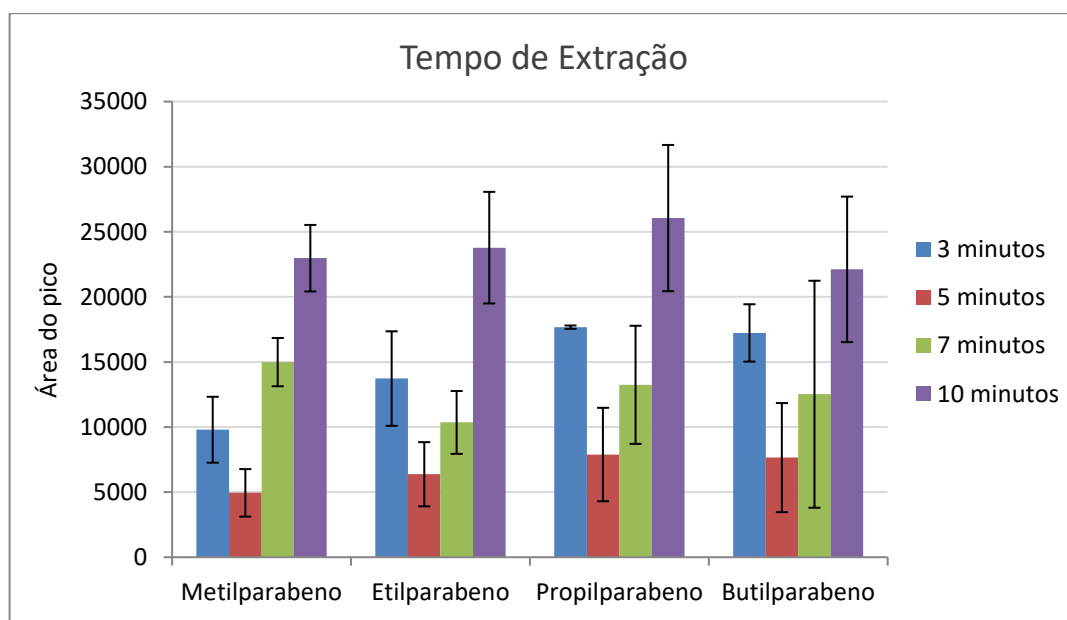


Figura 20 - Avaliação do tempo de extração na extração de parabenos por D- μ SPE. **Fonte:** Elaborada pela autora.

4.3.5 Tempo de eluição

A etapa de eluição foi avaliada quanto ao tempo da etapa, sendo avaliada em 3, 5, 7 e 10 minutos (**Figura 21**). Os quatro parabenos foram melhor extraídos quando se realizou 7

minutos de eluição (MeP: 53518; EtP: 53228; PrP: 53140,5; BuP: 44353,5), seguido por 10, 5 e 3 minutos. As extrações seguintes foram realizadas com 7 minutos para a etapa de eluição.

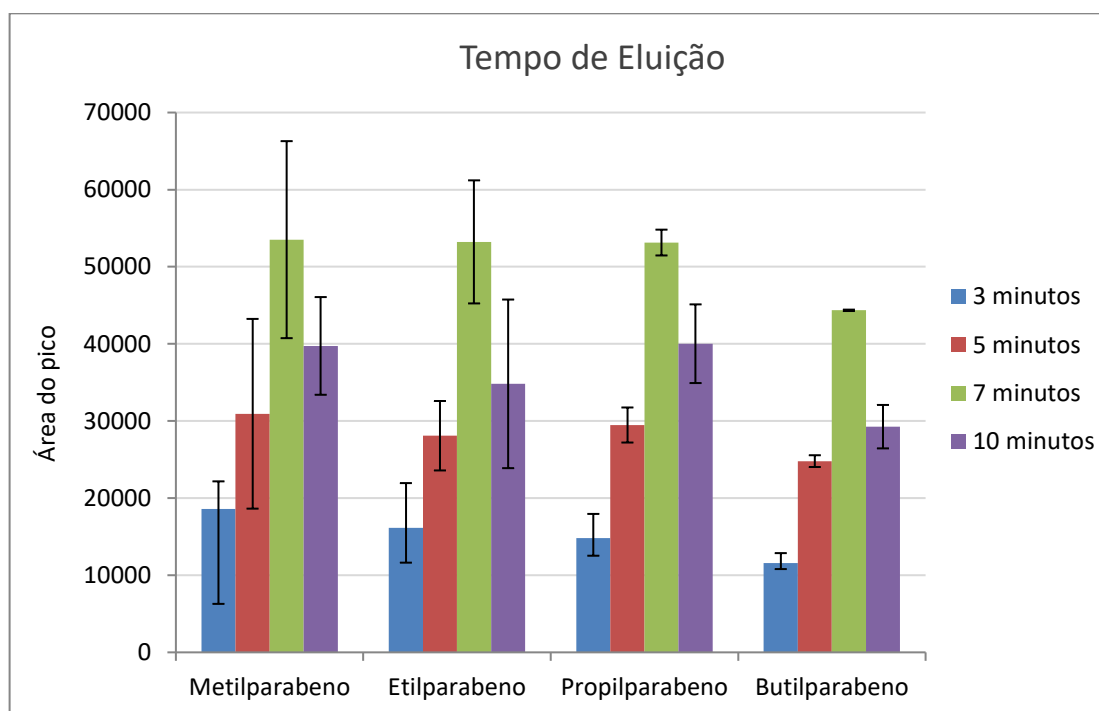


Figura 21 - Avaliação do tempo de eluição na extração de parabenos por D- μ SPE. **Fonte:** Elaborada pela autora.

4.3.6 Volume de amostra

O volume de amostra foi analisado nas quantidades 750, 1000 e 1500 μ L (**Figura 22**), sendo que volume de 1500 μ L gerou maiores áreas de pico para todos os analitos analisados (MeP: 78919,5; EtP: 34229; PrP: 36634,5; BuP: 29929,5), seguido por 1000 e 750 μ L.

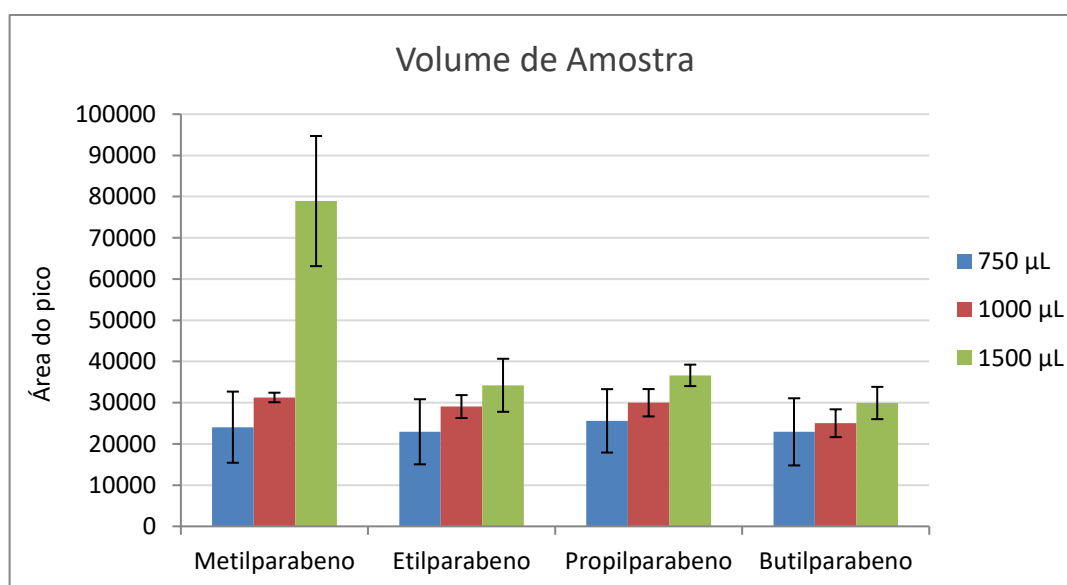


Figura 22 - Avaliação do volume de amostra na extração de parabenos por D- μ SPE. **Fonte:** Elaborada pela autora.

4.3.7 Equipamento de extração

Para a etapa de eluição dos analitos, avaliou-se a diferença na utilização de vortex (1000 rpm) e ultrassom (**Figura 23**). Para a extração de todos os analitos avaliados, a extração foi maior utilizando o vortex (1000 rpm) (MeP: 87961; EtP: 74826,5; PrP: 75341; BuP: 70331,5), sendo assim, seguiu-se os experimentos utilizando esse equipamento.

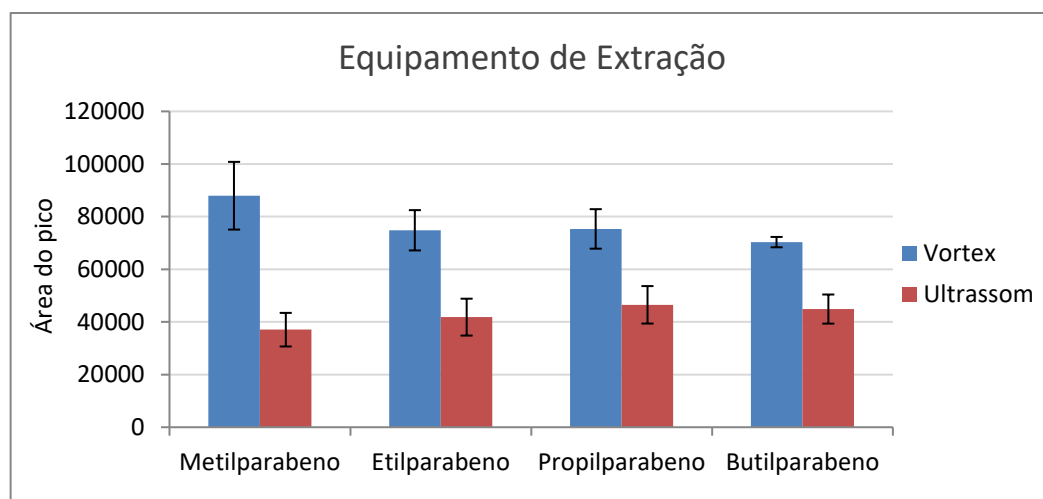


Figura 23 - Avaliação do equipamento de agitação na etapa de extração de parabenos por D- μ SPE. **Fonte:** Elaborada pela autora.

Em seguida foi analisado diferentes velocidades de agitação do vortex na etapa de extração (**Figura 24**), sendo que a velocidade de 1500 rpm, apresentou melhor extração para todos os parabenos analisados (MeP: 87961; EtP: 74826,5; PrP:75341; BuP: 70331,5).

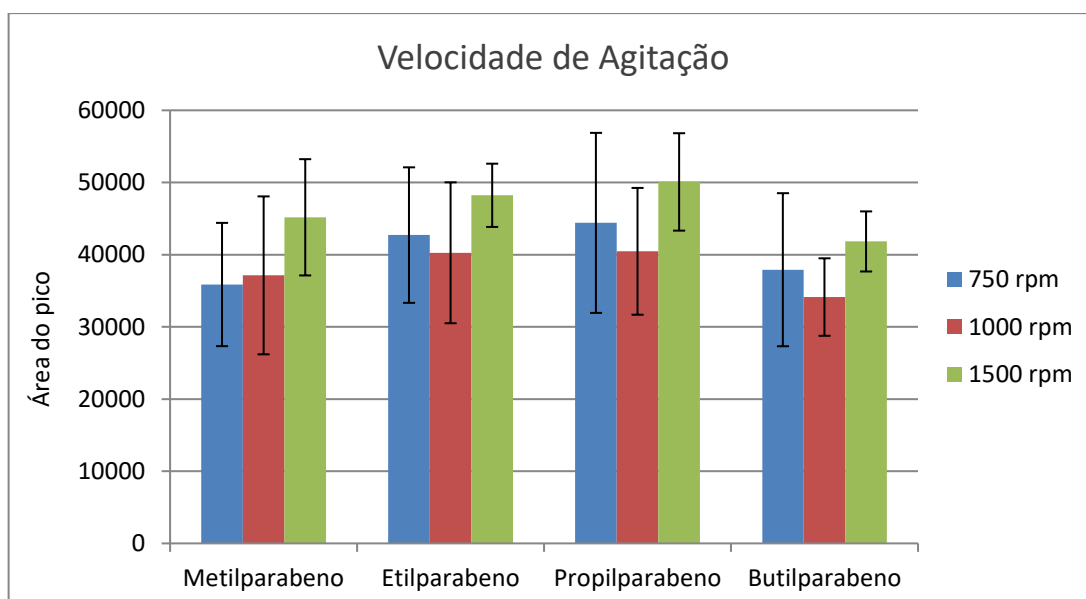


Figura 24 - Avaliação da velocidade de agitação na etapa de extração de parabenos por D- μ SPE. **Fonte:** Elaborada pela autora.

Após a otimização de todos os parâmetros na extração dos parabenos MeP, EtP, PrP e BuP por D- μ SPE (**Tabela 6**), estabeleceu-se o método de extração da seguinte forma (**Figura 25**):

- Em um eppendorf de 2 mL, adicionar 15 mg do sorvente ViImC4S@GO e 1,5 mL de amostra;
- Colocar o eppendorf sob agitação em vortex 1500 rpm por 10 minutos;
- Centrifugar o eppendorf por 5 minutos a 1400 rpm;
- Descartar o sobrenadante;
- Adicionar 750 μ L do solvente de eluição acetonitrila com ácido fórmico (0,1%);
- Colocar o eppendorf em ultrassom por 7 minutos;
- Coletar o sobrenadante e filtrar em membrana 0,45 μ m.

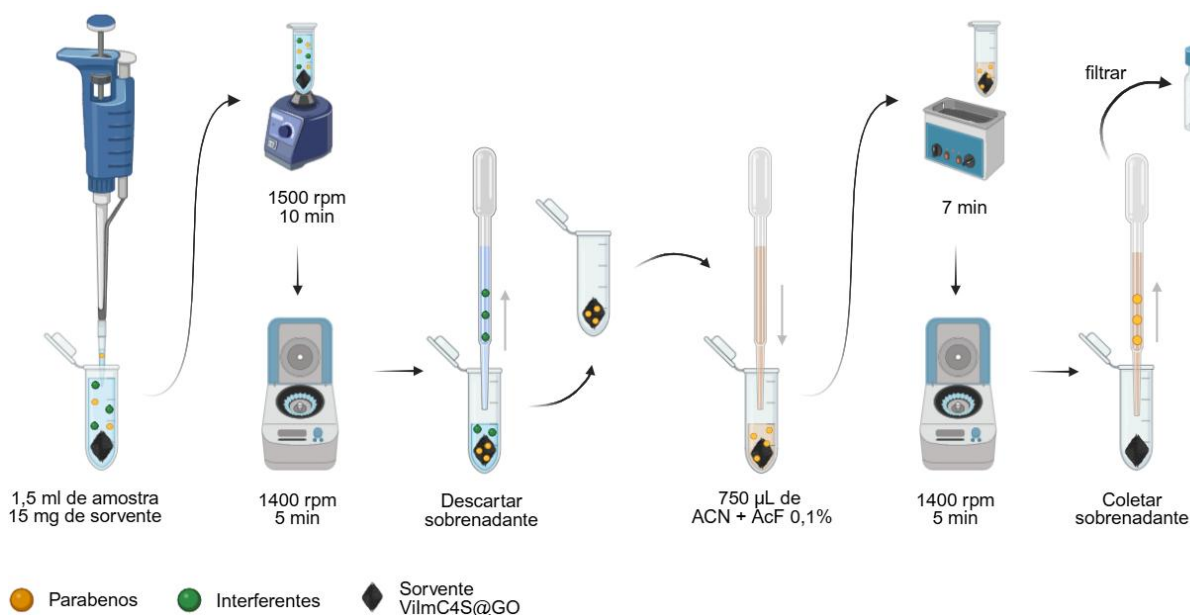


Figura 25 - Método otimizado de Microextração Dispersiva em Fase Sólida (D- μ SPE) de parabenos. **Fonte:** Elaborada pela autora utilizando o software BioRender.

Tabela 6 - Parâmetros estabelecidos para método de extração de parabenos por extração D- μ SPE.

Fonte: Elaborada pela autora.

Parâmetro	
Quantidade de sorvente	15 mg
Solvente de dessorção	ACN + AcF 0,1%
Quantidade de solvente	750
Tempo de extração	10 minutos

Tempo de eluição	7 minutos
Volume de amostra	1500 μ L
Equipamento de extração	Vortex
Velocidade de agitação da extração	1500 rpm

4.4 Método do HPLC-MS/MS

As análises das figuras de mérito foram realizadas por HPLC-MS/MS, portanto foi realizado curvas de calibração para os parabenos analisados (**Figura 26**). Os coeficientes de determinação (R^2) para todos os analitos foram superiores a 0,990, indicando comportamento linear consistente (**Tabela 7**).

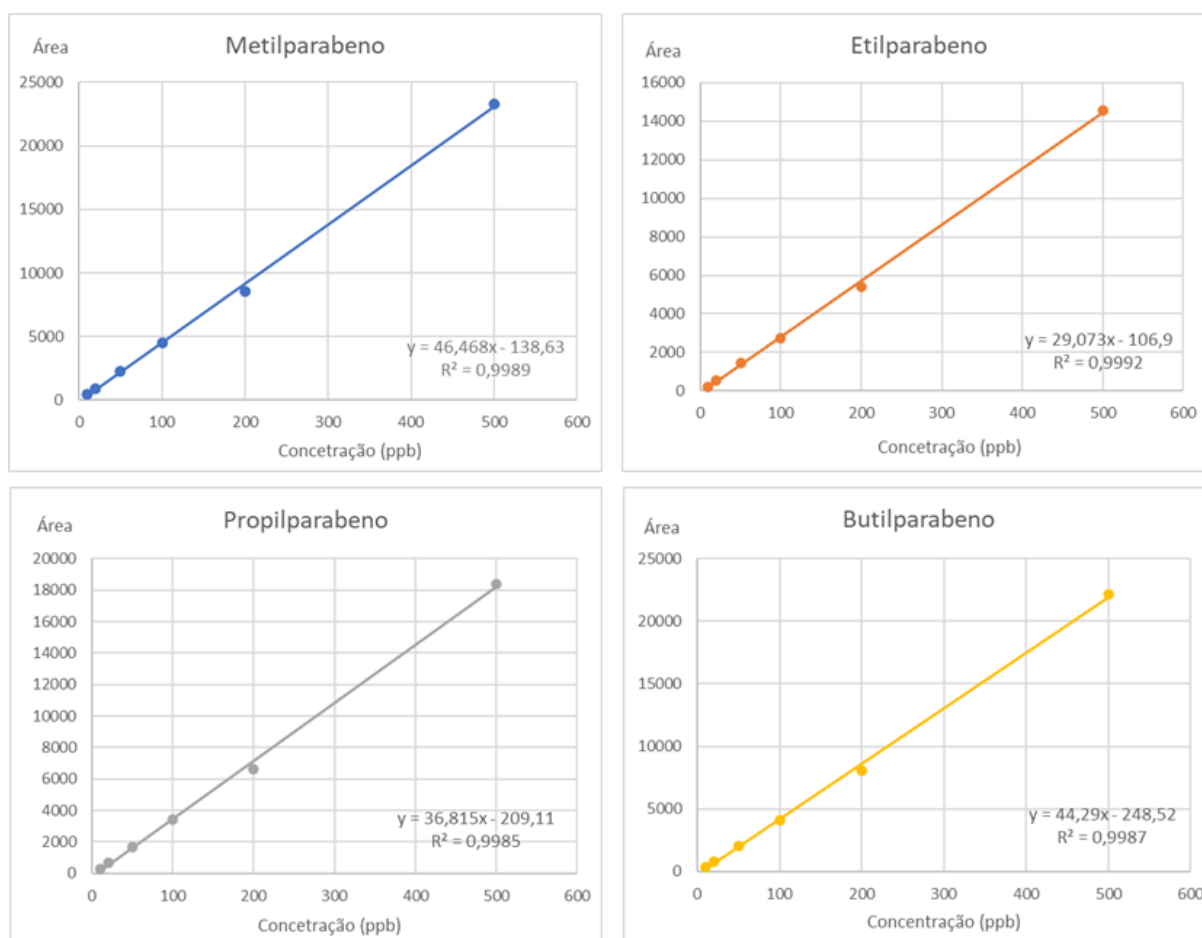


Figura 26 - Curva de calibração dos analitos MeP, EtP, PrP e BuP realizada em HPLC-MS/MS. **Fonte:** Elaborada pela autora.

Tabela 7 - Curva de calibração dos analitos MeP, EtP, PrP e BuP realizada em HPLC-MS/MS.

Fonte: Elaborada pela autora.

Analito	Equação da reta	R ²
Metilparabeno	$y = 46,475x - 144,06$	0,9989
Etilparabeno	$y = 29,073x - 106,90$	0,9992
Propilparabeno	$y = 36,815x - 209,11$	0,9985
Butilparabeno	$y = 44,29x - 248,52$	0,9987

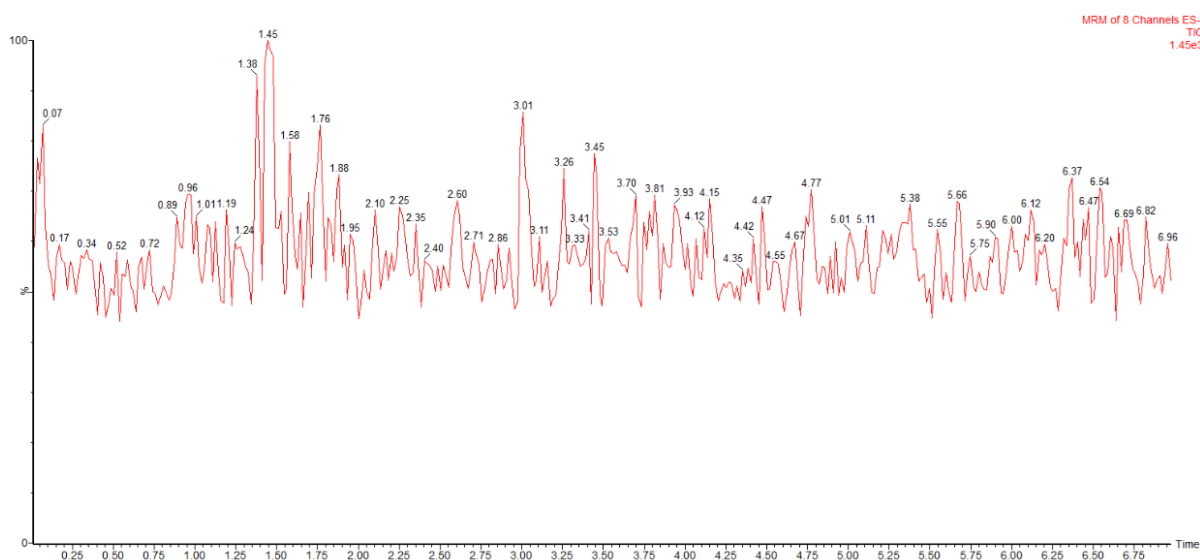
R²: coeficiente de determinação

4.5 Análise das principais figuras de mérito

4.5.1 Seletividade

A seletividade foi avaliada comparando os cromatogramas de amostras em branco com amostras fortificadas a 200 ppb com os parabenos em água e em sabonete (**Figura 27, 28, 29**). No cromatograma da amostra em branco não há sinais significativos que interferem nos sinais produzidos pelos analitos, como observados nos cromatogramas fortificados em água e em sabonete.

Amostra em branco

**Figura 27** - Cromatograma de amostra de sabonete líquido facial em branco. Fonte: Elaborada pela autora.

Amostra fortificada

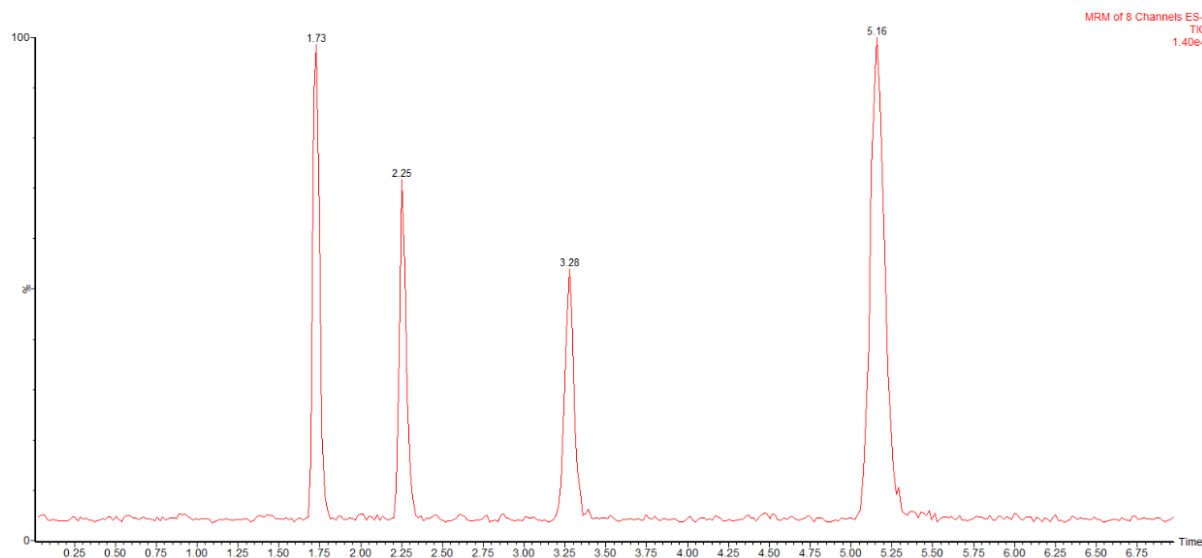


Figura 28 - Cromatograma de amostra fortificada com parabenos (200 ppb) em água. **Fonte:** Elaborada pela autora.

Amostra de sabonete fortificada

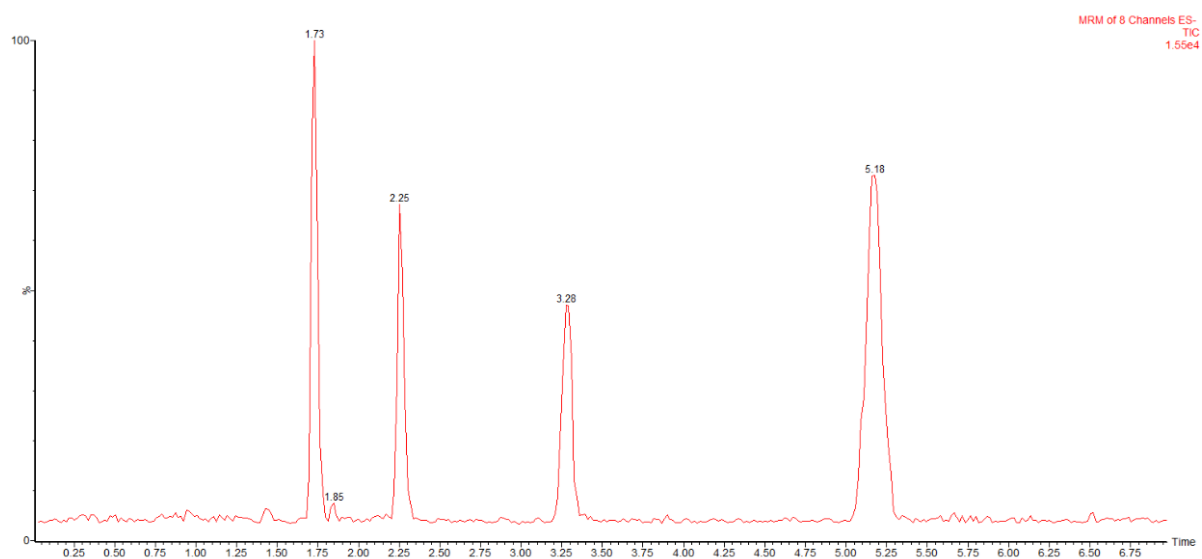


Figura 29 - Cromatograma de amostra fortificada (200 ppb) em sabonete líquido facial. **Fonte:** Elaborada pela autora.

4.5.2 LOD e LOQ

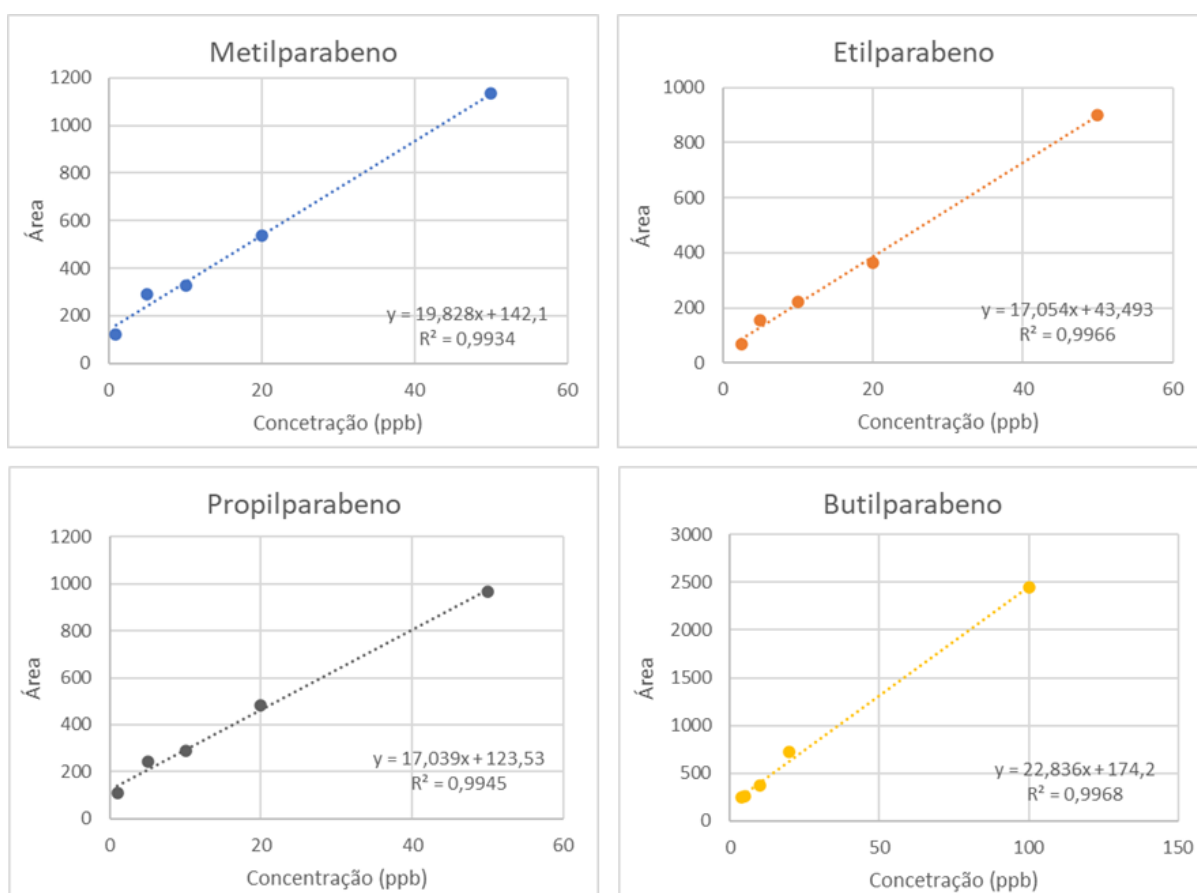
Os limites de detecção (LOD) e limites de quantificação (LOQ) para os parabenos avaliados estão descritos na **Tabela 8**. Os valores de LOD ($S/N = 3$) para os parabenos avaliados ficaram entre 0,30 e 1,33 ppb, enquanto que os valores de LOQ ($S/N = 10$) ficaram entre 0,90 e 4,0 ppb.

Tabela 8 - LOD e LOQ dos analitos MeP, EtP, PrP e BuP. **Fonte:** Elaborada pela autora.

Analito	LOD (ppb)	LOQ (ppb)
Metilparabeno	0,30	0,90
Etilparabeno	0,83	2,5
Propilparabeno	0,33	1,0
Butilparabeno	1,33	4,0

4.5.3 Linearidade

A linearidade do método foi avaliada através da construção das curvas analíticas dos parabenos em amostras de sabonete, plotando cinco concentrações para cada analito (**Figura 30**). A linearidade do método demonstrou ser boa, com $R^2 > 0,990$ para todos os analitos. O R^2 das curvas de calibração do MeP, EtP, PrP e BuP foram respectivamente 0,9934; 0,9966; 0,9945 e 0,9968.

**Figura 30** - Curvas de calibração de amostras de sabonete fortificadas na faixa de 0,9 a 50 ppb (MeP, EtP, PrP) e 4 a 100 ppb (BuP). **Fonte:** Elaborada pela autora.

4.5.4 Precisão e recuperação

A precisão do método foi avaliada intradias e interdias em três níveis de concentração (baixo = 5 ppb, médio = 10 ppb e alto = 50 ppb) (**Tabela 9**). Os desvios padrão relativos (DPR) intradias e interdias foram inferiores a 15% para todos os parabenos avaliados, demonstrando boa precisão do método, estando de acordo com o Conselho Internacional para Harmonização (ICH) de Requisitos Técnicos para o Registro de Produtos Farmacêuticos para Uso Humano, que estabelece padrões para a validação de métodos bioanalíticos e a análise de amostras de estudos clínicos e não clínicos (FDA, 2022).

Tabela 9 - Avaliação da precisão do método inter e intradias em três níveis de concentração. **Fonte:** Elaborada pela autora.

Desvio Padrão Relativo (%)						
Analito	Intradia			Interdia		
	5 ppb (baixo)	10 ppb (médio)	50 ppb (alta)	5 ppb (baixo)	10 ppb (médio)	50 ppb (alta)
Metilparabeno	12,40	11,34	4,04	13,58	14,70	7,85
Etilparabeno	10,54	8,82	1,24	12,83	12,19	11,08
Propilparabeno	7,46	4,32	7,50	6,01	6,77	6,09
Butilparabeno	8,75	6,57	1,43	8,86	12,55	1,68

A recuperação do método foi avaliada utilizando os mesmos níveis de concentração usados na avaliação da precisão, através da recuperação (%) dos analitos (**Tabela 10**). Os valores de recuperação obtidos ficaram entre 71,17 e 99,16 %, os quais são considerados valores adequados de acordo com DA SILVA *et al.* (2021), pois encontram-se entre 70 % e 120 %.

Tabela 10 - Recuperação (%) dos analitos em três níveis de concentração. **Fonte:** Elaborada pela autora.

Recuperação (%)			
Analito	5 ppb (baixa)	10 ppb (média)	50 ppb (alta)
Metilparabeno	93,78	72,30	74,43
Etilparabeno	78,25	71,98	71,17
Propilparabeno	99,16	72,66	98,47
Butilparabeno	83,81	88,60	84,98

4.5.5 Efeito matriz

A avaliação do efeito matriz foi feita através da comparação das curvas de calibração dos parabenos nas matrizes (sabonete líquido, hidratante facial e protetor solar facial) e em solvente (ACN e água destilada, 40:60). O efeito matriz (EM %) em sabonete líquido para MeP, EtP, PrP e BuP foram respectivamente -4,54; -5,63; -0,63 e -4,99 % (**Figura 31**).

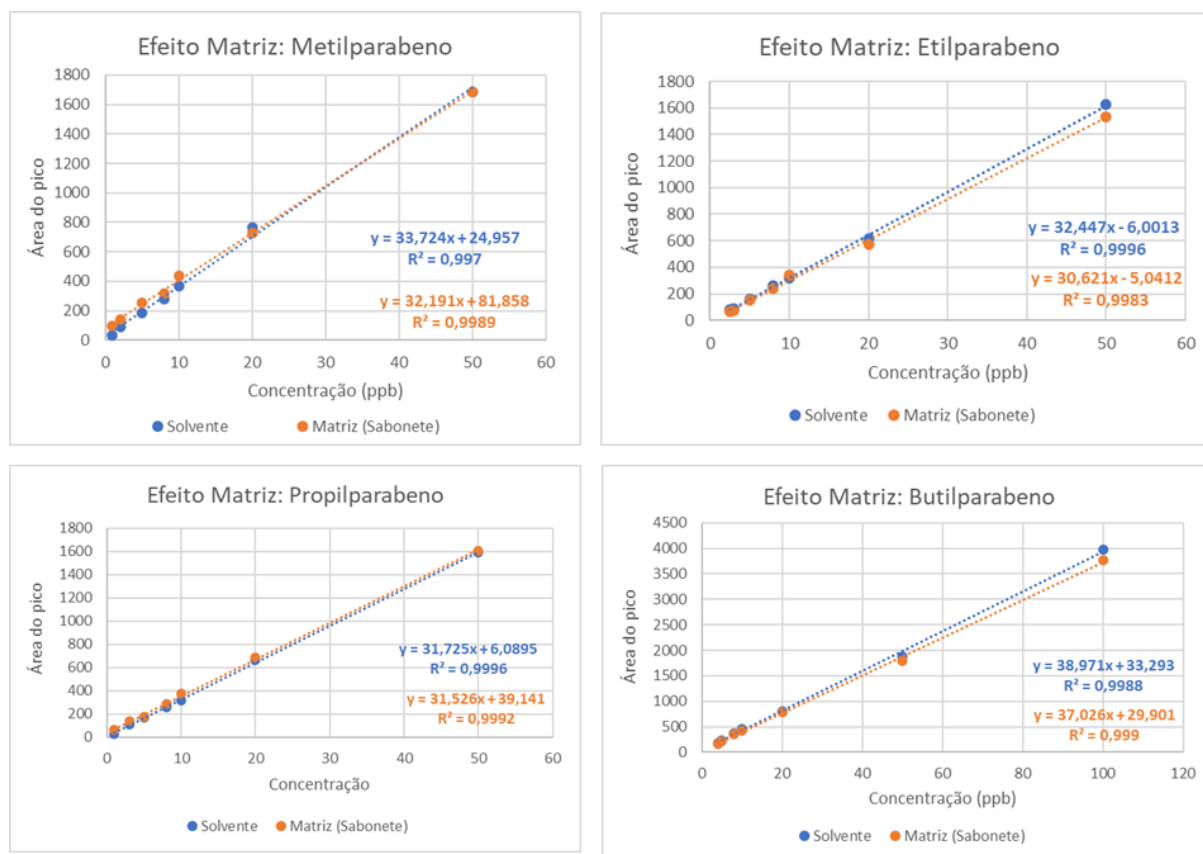


Figura 31 - Curvas de calibração dos parabenos em sabonete líquido e solvente. **Fonte:** Elaborada pela autora.

O efeito matriz obtido foi considerado aceitável, pois permaneceu dentro do intervalo de $\pm 15\%$ em relação ao sinal do padrão preparado em solvente, estando de acordo com diretrizes do ICH (FDA, 2022). Dessa forma, um efeito matriz dentro de $\pm 15\%$ é classificado como baixo e compatível com o desempenho esperado de um método quantitativo robusto e confiável.

Os valores de EM em hidratante facial para MeP, EtP, PrP e BuP foram respectivamente 2,01; -6,66; -0,52 e -4,85 % (**Figura 32**). Por sua vez, os valores de EM para protetor solar para MeP, EtP, PrP e BuP foram respectivamente -13,77; -11,04; -6,69 e -11,09 % (**Figura 33**). Novamente, os valores de EM para as matrizes hidratante facial e protetor solar facial estiveram contempladas no intervalo de $\pm 15\%$ e foram consideradas adequadas para a aplicação do método.

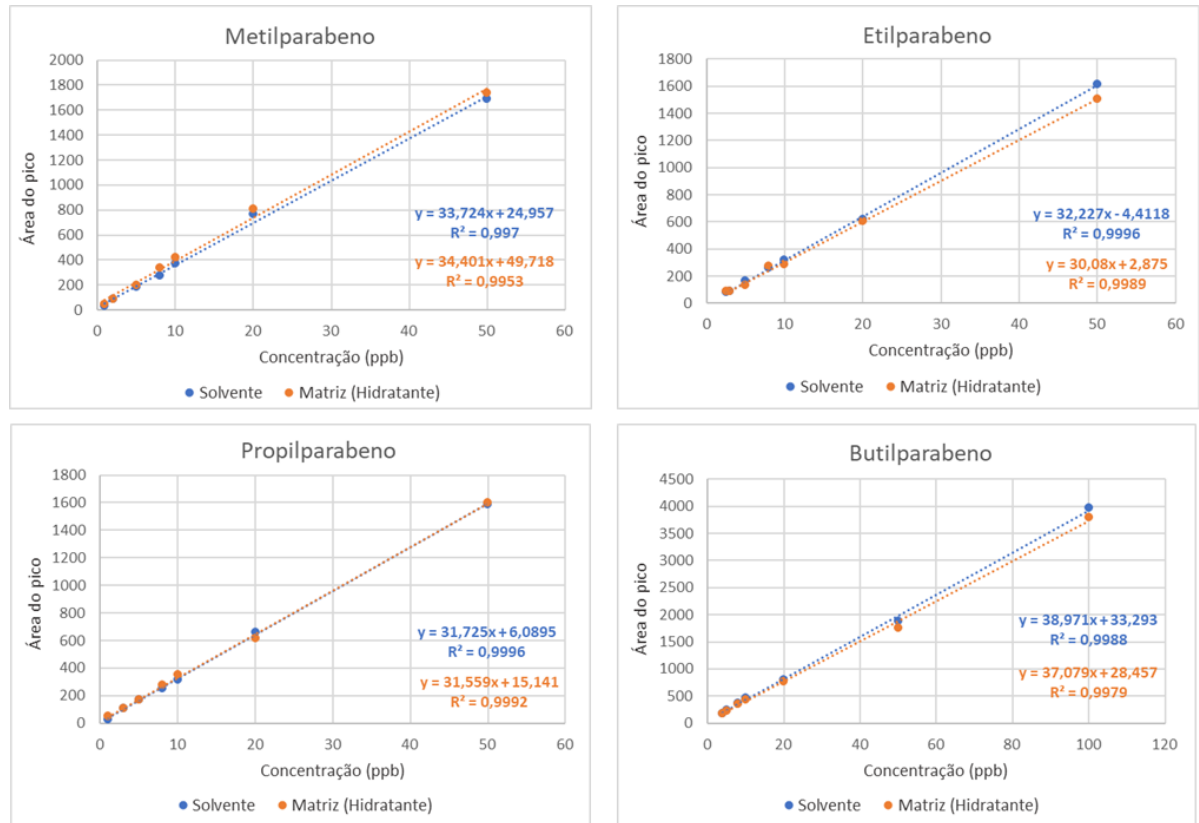


Figura 32 - Curvas de calibração dos parabenos em hidratante e solvente. **Fonte:** Elaborada pela autora.

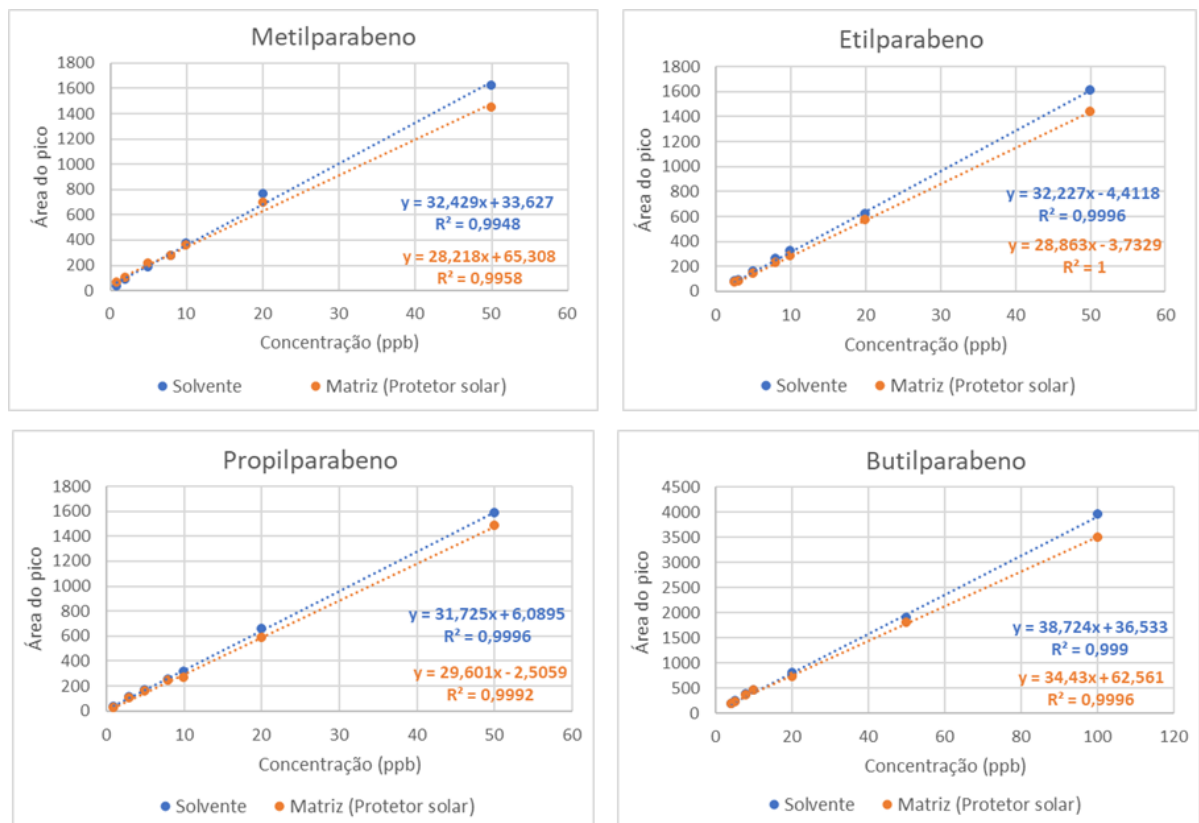


Figura 33 - Curvas de calibração dos parabenos em protetor solar e solvente. **Fonte:** Elaborada pela autora.

4.6 Aplicação da técnica em amostras reais

O método otimizado foi aplicado na extração de parabenos de amostras de sabonete facial, hidratante facial e protetor solar facial. Em todas as amostras não foi possível detectar parabenos dentro dos limites de detecção (LOD) e limites de quantificação (LOQ). Os cromatogramas das amostras reais (**Figura 34, 35, 36**) apresentaram picos nos tempos próximos a 1,45 minutos e 1,71 minutos; estes picos representam interferentes, uma vez que os tempos de retenção dos analitos MeP, EtP, PrP e BuP são respectivamente em torno de 1,73; 2,25; 3,28 e 5,17 minutos (**Figura 28, 29**). Estes picos não atrapalham as análises dos parabenos exatamente por possuírem tempos de retenção diferentes dos parabenos analisados.

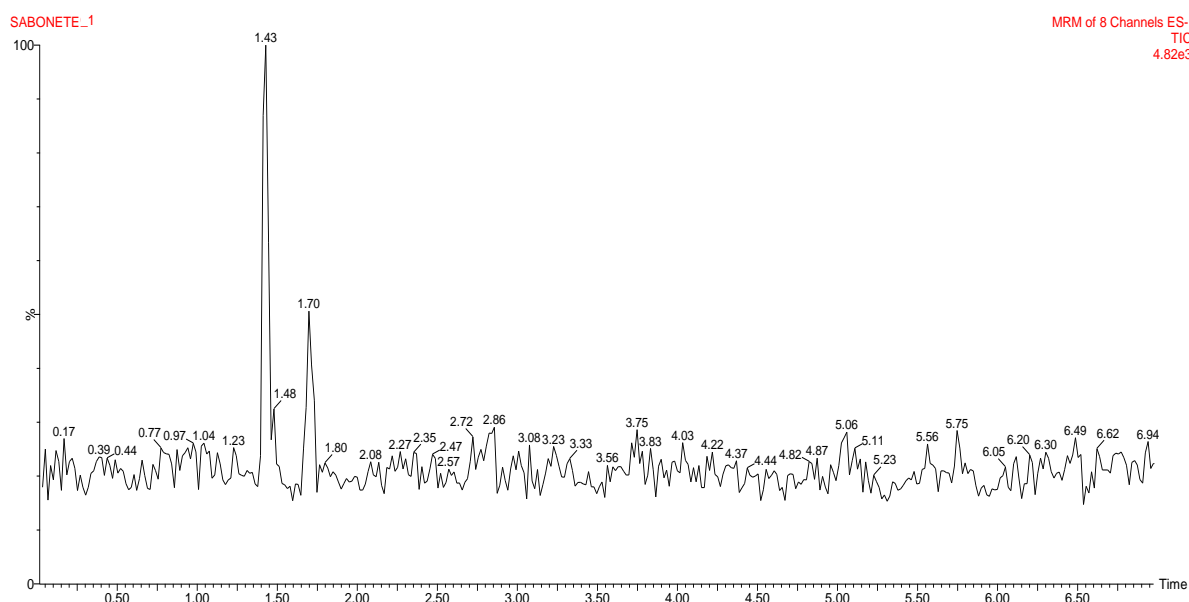


Figura 34 - Cromatograma de amostra real de sabonete facial. **Fonte:** Elaborada pela autora.

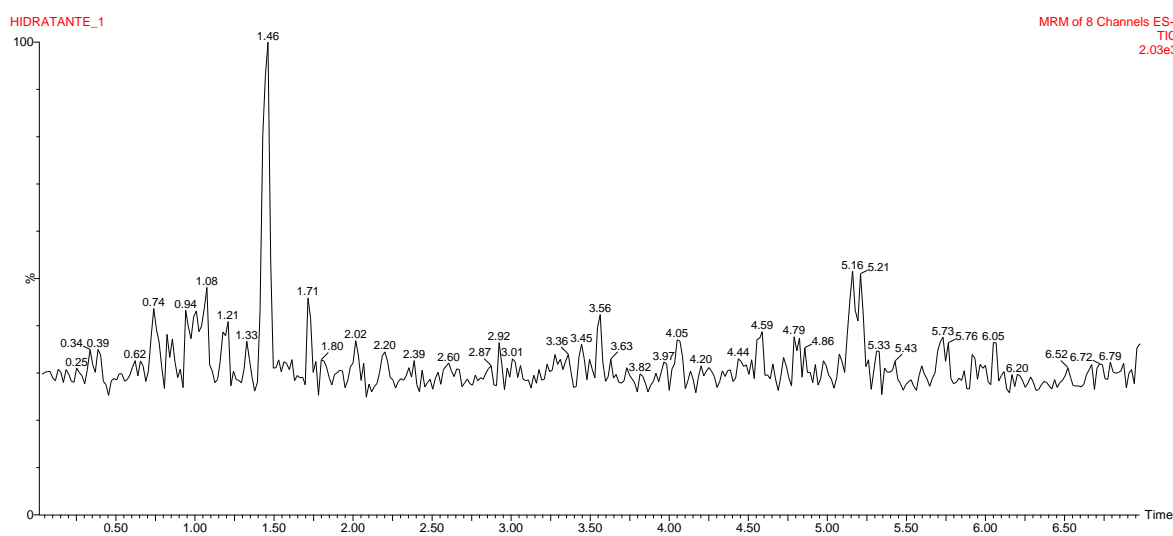


Figura 35 - Cromatograma de amostra real de hidratante facial. **Fonte:** Elaborada pela autora.

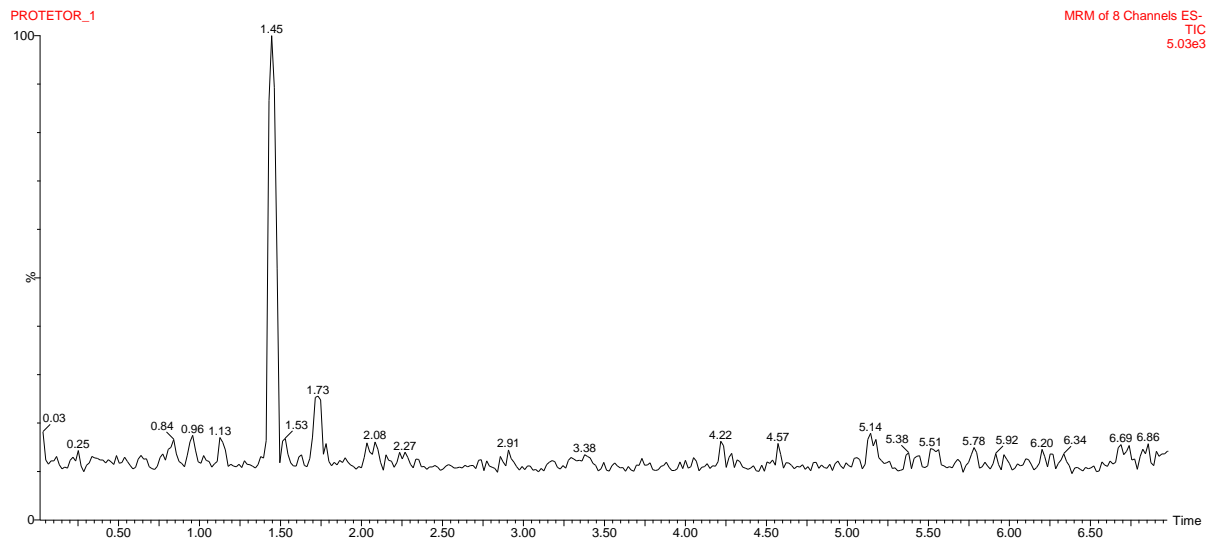


Figura 36 - Cromatograma de amostra real de protetor solar facial. **Fonte:** Elaborada pela autora.

5. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste trabalho demonstraram êxito no desenvolvimento e otimização de um método de Microextração Dispersiva em Fase Sólida (D- μ SPE) para a extração de parabenos (Metilparabeno, Etilparabeno, Propilparabeno e Butilparabeno) em amostras de cosméticos. Contudo, a extração de parabenos pela técnica de Microextração por Sorvente Empacotado (MEPS) com sorventes a base de óxido de grafeno não foi bem sucedida devido a compactação do material. O sorvente a base de óxido de grafeno modificado com líquido zwitteriônico, ViImC4S@GO, mostrou-se o mais eficiente para a extração dos parabenos analisados, sendo exemplo de aumento de seletividade através da adição de líquidos iônicos em sorventes a base de grafeno. A otimização dos parâmetros de extração, incluindo quantidade de sorvente (15 mg), solvente de dessorção (ACN + AcF 0,1%), quantidade de solvente (750 μ L), tempo de extração (10 minutos), tempo de eluição (7 minutos), volume de amostra (1500 μ L) e equipamento de agitação (vortex a 1500 rpm), foi crucial para maximizar a eficiência do método. O método otimizado, acoplado à cromatografia líquida de alta eficiência com espectrometria de massas (HPLC-MS/MS), demonstrou excelente desempenho analítico. Adicionalmente, a análise do efeito matriz sugere que o método é robusto e pode ser aplicado a diferentes matrizes cosméticas sem interferências significativas. Em suma, este trabalho contribui significativamente para o desenvolvimento de metodologias analíticas eficientes e sensíveis para o monitoramento de parabenos em produtos cosméticos, utilizando sorventes inovadores à base de óxido de grafeno modificado, e a metodologia estabelecida pode ser uma ferramenta valiosa para órgãos reguladores e indústrias na garantia da segurança dos produtos cosméticos.

REFERÊNCIAS

- ALCOLADO, C. I.; JIMÉNEZ, E.; GARCÍA-RÍO, L.; POBLETE, F. J. Aqueous-Phase Degradation Mechanism of Parabens, Emerging Contaminants, by Peroxynitrite. *ACS ES&T Water*, v. 5, n. 7, p. 4147–4155, 11 jul. 2025. Disponível em: <doi/pdf/10.1021/acsestwater.5c00362?ref=article_openPDF>. Acesso em: 4 nov. 2025.
- ALI, A. H. High-Performance Liquid Chromatography (HPLC): A review. *Annals of Advances in Chemistry*, v. 6, n. 1, p. 010–020, 20 jun. 2022. Disponível em: <https://www.advancechemjournal.com/journals/aac/aac-aid1026.php>. Acesso em: 4 nov. 2025.
- ALI, A. H. High-Performance Liquid Chromatography (HPLC): A review. *Annals of Advances in Chemistry*, v. 6, n. 1, p. 010–020, 20 jun. 2022. Disponível em: <https://www.advancechemjournal.com/journals/aac/aac-aid1026.php>. Acesso em: 5 nov. 2025.
- ALSABBAHEN, S. I.; HUSSAIN, I.; KOTOB, E.; GANIYU, S. A.; ALHOOSHANI, K. Recent advancements in porous sorbent materials and micro solid-phase extraction (μ -SPE) modifications for improved pesticide identification in waste water. *Environmental Research*, v. 284, p. 122221, 1 nov. 2025. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0013935125014720>. Acesso em: 6 nov. 2025.
- AMBERG, N.; FOGARASSY, C. Green Consumer Behavior in the Cosmetics Market. *Resources* 2019, Vol. 8, Page 137, v. 8, n. 3, p. 137, 30 jul. 2019. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2079-9276/8/3/137/htm>. Acesso em: 9 jun. 2025.
- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução. RDC nº 166, de 24 de julho de 2017. Estabelece critérios para a validação de métodos analíticos. *Diário Oficial da União*: seção 1, Brasília, DF, 25 jul. 2017. Disponível em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/resolucao-rdc-n-529-de-26-de-agosto-de-2021-338872216>. Acesso em: 6 jun. 2025.
- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução de Diretoria Colegiada. RDC nº 529, de 04 de agosto de 2021. Dispõe sobre a lista de substâncias que não podem ser utilizadas em produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes e internaliza a Resolução GMC MERCOSUL nº 62/14, alterada pela Resolução GMC MERCOSUL nº 37/20. *Diário Oficial da União*: seção 1, Brasília, DF, 06 ago. 2021. Disponível em: <https://www.in.gov.br/web/dou/-/resolucao-de-diretoria-colegiada-rdc-n-529-de-4-de-agosto-de-2021-337524962>. Acesso em: 5 nov. 2025.
- BADAWY, M. E. I.; EL-NOUBY, M. A. M.; KIMANI, P. K.; LIM, L. W.; RABEA, E. I. A review of the modern principles and applications of solid-phase extraction techniques in chromatographic analysis. *Analytical Sciences* 2022 38:12, v. 38, n. 12, p. 1457–1487, 5 out. 2022. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s44211-022-00190-8>. Acesso em: 30 nov. 2025.

BADAWY, M. E. I.; EL-NOUBY, M. A. M.; KIMANI, P. K.; LIM, L. W.; RABEA, E. I. A review of the modern principles and applications of solid-phase extraction techniques in chromatographic analysis. *Analytical Sciences* 2022 38:12, v. 38, n. 12, p. 1457–1487, 5 out. 2022. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s44211-022-00190-8>>. Acesso em: 30 nov. 2025.

BADAWY, M. E. I.; EL-NOUBY, M. A. M.; KIMANI, P. K.; LIM, L. W.; RABEA, E. I. A review of the modern principles and applications of solid-phase extraction techniques in chromatographic analysis. *Analytical Sciences* 2022 38:12, v. 38, n. 12, p. 1457–1487, 5 out. 2022. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s44211-022-00190-8>>. Acesso em: 30 nov. 2025.

BAKER, B. H.; WU, H.; LAUE, H. E.; BOIVIN, A.; GILLET, V.; LANGLOIS, M. F.; BELLENGER, J. P.; BACCARELLI, A. A.; TAKSER, L. Methylparaben in meconium and risk of maternal thyroid dysfunction, adverse birth outcomes, and Attention-Deficit Hyperactivity Disorder (ADHD). *Environment International*, v. 139, p. 105716, 1 jun. 2020. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0160412020303159?via%3Dihub>>. Acesso em: 9 jun. 2025.

BERTHOD, A.; CARDA-BROCH, S. Determination of liquid–liquid partition coefficients by separation methods. *Journal of Chromatography A*, v. 1037, n. 1–2, p. 3–14, 28 maio 2004. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021967304000445?via=ihub>>. Acesso em: 30 nov. 2025.

BIAN, Y.; ZHANG, Y.; ZHOU, Y.; LI, G. hui; FENG, X. song. Progress in the pretreatment and analysis of N-nitrosamines: an update since 2010. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, v. 61, n. 21, p. 3626–3660, 25 nov. 2021. Disponível em: <<https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10408398.2020.1803790>>. Acesso em: 6 nov. 2025.

BILAL, M.; MEHMOOD, S.; IQBAL, H. M. N. The Beast of Beauty: Environmental and Health Concerns of Toxic Components in Cosmetics. *Cosmetics* 2020, Vol. 7, Page 13, v. 7, n. 1, p. 13, 28 fev. 2020. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2079-9284/7/1/13/htm>>. Acesso em: 9 jun. 2025.

CARDOSO, A. T.; LANÇAS, F. M. Graphene oxide functionalized with hydrophilic ionic liquid as stir bar coating: Sorptive extraction of selected triazines in grape juice samples. *Analytica Chimica Acta*, v. 1343, p. 343691, 15 mar. 2025. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0003267025000856>>. Acesso em: 24 nov. 2025.

CARDOSO, A. T.; MARTINS, R. O.; LANÇAS, F. M. Advances and Applications of Hybrid Graphene-Based Materials as Sorbents for Solid Phase Microextraction Techniques. *Molecules*

2024, Vol. 29, Page 3661, v. 29, n. 15, p. 3661, 2 ago. 2024. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/1420-3049/29/15/3661/htm>>. Acesso em: 11 jun. 2025.

CASADO, N.; PÉREZ-QUINTANILLA, D.; MORANTE-ZARCERO, S.; SIERRA, I. Bi-functionalized mesostructured silicas as reversed-phase/strong anion-exchange sorbents. Application to extraction of polyphenols prior to their quantitation by UHPLC with ion-trap mass spectrometry detection. *Microchimica Acta*, v. 186, nov. 2019.

CHATTERJEE, S.; ADHIKARY, S.; BHATTACHARYA, S.; CHAKRABORTY, A.; DUTTA, S.; ROY, D.; GANGULY, A.; NANDA, S.; RAJAK, P. Parabens as the double-edged sword: Understanding the benefits and potential health risks. *Science of The Total Environment*, v. 954, p. 176547, 1 dez. 2024. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969724067032>>. Acesso em: 24 nov. 2025.

CHESTER, T. L. The combination of partition, size exclusion, and hydrodynamic models in chromatography, and application to bonded phases on porous supports. *Journal of Chromatography A*, v. 1620, p. 461011, 7 jun. 2020. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S002196732030217X?via%3Dihub>>. Acesso em: 30 nov. 2025.

CHIRIAC, U.; RAU, H.; FREY, O. R.; RÖHR, A. C.; KLEIN, S.; MEYER, A. L.; MORATH, B. Validation and Application of an HPLC-UV Method for Routine Therapeutic Drug Monitoring of Dalbavancin. *Antibiotics*, v. 11, n. 5, p. 541, 1 abr. 2022. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2079-6382/11/5/541/htm>>. Acesso em: 30 nov. 2025.

CHISVERT, A.; CÁRDENAS, S.; LUCENA, R. Dispersive micro-solid phase extraction. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, v. 112, p. 226–233, 1 mar. 2019. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0165993618305181>>. Acesso em: 30 nov. 2025.

CHROMIEC, A.; WIETECZA-POŚLUSZNY, R. Micro-solid phase extraction with in-lab-packed columns for cost-efficient drug extraction from urine samples. *Monatshefte für Chemie - Chemical Monthly* 2024 155:8, v. 155, n. 8, p. 859–868, 6 ago. 2024. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s00706-024-03243-y>>. Acesso em: 30 nov. 2025.

DA SILVA, M. D. S. P.; DA SILVA, C. E. P.; DA SILVA, F. L. F.; RAULINO, D. de S.; NASCIMENTO, R. F.; BECKER, H.; VIDAL, C. B. Optimization of a dispersive liquid–liquid microextraction followed by liquid chromatography–diode array detection method for the determination of parabens in surface waters. *Desalination and Water Treatment*, v. 231, p. 273–286, 1 ago. 2021. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1944398624089707>>. Acesso em: 5 nov. 2025.

DARBRE, P. D.; ALJARRAH, A.; MILLER, W. R.; COLDHAM, N. G.; SAUER, M. J.; POPE, G. S. Concentrations of Parabens in human breast tumours. *Journal of Applied*

Toxicology, v. 24, n. 1, p. 5–13, 1 jan. 2004. Disponível em: <[doi/pdf/10.1002/jat.958](https://doi.org/10.1002/jat.958)>. Acesso em: 5 nov. 2025.

DARBRE, P. D.; HARVEY, P. W. Paraben esters: review of recent studies of endocrine toxicity, absorption, esterase and human exposure, and discussion of potential human health risks. *Journal of Applied Toxicology*, v. 28, n. 5, p. 561–578, 1 jul. 2008. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/jat.1358>>. Acesso em: 19 jul. 2023.

DING, C.; ZHU, H.; TANG, Y.; YING, Y.; ZHU, Y.; LIN, H.; GE, R. S.; LI, H. Structural determinants of parabens in inhibiting human and rat gonadal 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase. *Toxicology and Applied Pharmacology*, v. 492, p. 117133, 1 nov. 2024. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0041008X24003326>>. Acesso em: 24 jun. 2025.

DMITRIENKO, S. G.; APYARI, V. V.; TOLMACHEVA, V. V.; GORBUNOVA, M. V.; FURLETOV, A. A. Dispersive and Magnetic Solid-Phase Extraction of Organic Compounds: Review of Reviews. *Journal of Analytical Chemistry* 2024 79:2, v. 79, n. 2, p. 105–118, 27 fev. 2024. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1134/S1061934824020060>>. Acesso em: 30 nov. 2025.

D’ORAZIO, G. Dispersive-Micro-Solid Phase Extraction. p. 53–84, 2024. Disponível em: <https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-031-50527-0_3>. Acesso em: 30 nov. 2025.

FAYEULLE, A.; TRUDEL, E.; DAMIENS, A.; JOSSE, A.; BEN HADJ YOUSSEF, N.; VIGNERON, P.; VAYSSADE, M.; ROSSI, C.; CEBALLOS, C. Antimicrobial and antioxidant activities of amines derived from vanillin as potential preservatives: Impact of the substituent chain length and polarity. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, v. 22, p. 100471, 1 set. 2021. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S235255412100098X>>. Acesso em: 24 nov. 2025.

FDA. M10 – Bioanalytical Method Validation and Study Sample Analysis. U.S. Food and Drug Administration, 2022. Disponível em: <<https://www.fda.gov/regulatory-information/search-ANVISA-guidance-documents/m10-bioanalytical-method-validation-and-study-sample-analysis>>. Acesso em: 5 nov. 2025.

FEIST, B. Dispersive Micro-Solid Phase Extraction Using a Graphene Oxide Nanosheet with Neocuproine and Batocuproine for the Preconcentration of Traces of Metal Ions in Food Samples. *Molecules* 2023, Vol. 28, Page 4140, v. 28, n. 10, p. 4140, 17 maio 2023. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/1420-3049/28/10/4140/htm>>. Acesso em: 30 nov. 2025.

FUMES, B. H.; LANÇAS, F. M. Use of graphene supported on aminopropyl silica for microextraction of parabens from water samples. *Journal of Chromatography A*, v. 1487, p. 64–71, 3 mar. 2017. . Acesso em: 19 jul. 2023.

GHAZAGHI, M.; MOUSAVI, H. Z.; RASHIDI, A. M.; SHIRKHANLOO, H.; RAHIGHI, R. Innovative separation and preconcentration technique of coagulating homogenous dispersive micro solid phase extraction exploiting graphene oxide nanosheets. *Analytica Chimica Acta*, v.

902, p. 33–42, 1 jan. 2016. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26703251/>>. Acesso em: 5 nov. 2025.

GREDA, K.; WELNA, M.; SZYMCZYCHA-MADEJA, A.; POHL, P. Dispersive micro-solid phase extraction based on graphene oxide for the ultrasensitive determination of Cd by slurry sampling microplasma optical emission spectrometry. *Microchemical Journal*, v. 196, p. 109715, 1 jan. 2024. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0026265X23013346>>. Acesso em: 30 nov. 2025.

HALDAR, S.; MUKHERJEE, S.; DEY, A. Never say yes to parabens? A review on paraben compounds in potential human exposure risks. *The Journal of Basic and Applied Zoology* 2025 86:1, v. 86, n. 1, p. 13-, 14 fev. 2025. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1186/s41936-025-00430-z>>. Acesso em: 24 nov. 2025.

HARRIS, D. C. . *Quantitative chemical analysis*. 2007. . Acesso em: 30 nov. 2025.

HONDA, M.; ROBINSON, M.; KANNAN, K. Parabens in human urine from several Asian countries, Greece, and the United States. *Chemosphere*, v. 201, p. 13–19, 1 jun. 2018. . Acesso em: 19 jul. 2023.

HUSSEIN, J. Principles and Applications of High-Performance Liquid Chromatography (HPLC): A Review. *Biomedical and Pharmacology Journal*, v. 18, n. 2, p. 1085–1089, 1 jun. 2025. . Acesso em: 5 nov. 2025.

JANO, A.; FUENTE-BALLESTEROS, A.; ARES, A. M.; BERNAL, J. Miniaturized solid-phase extraction techniques in sample preparation applied to food matrices: A review. *Microchemical Journal*, v. 213, p. 113794, 1 jun. 2025. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0026265X25011488?via%3Dihub>>. Acesso em: 30 nov. 2025.

JOSHI, D. J.; KODURU, J. R.; MALEK, N. I.; HUSSAIN, C. M.; KAILASA, S. K. Surface modifications and analytical applications of graphene oxide: A review. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, v. 144, p. 116448, 1 nov. 2021. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0165993621002715#bib87>>. Acesso em: 25 nov. 2025.

KABIR, A.; LOCATELLI, M.; ULUSOY, H. I. Recent Trends in Microextraction Techniques Employed in Analytical and Bioanalytical Sample Preparation. *Separations* 2017, Vol. 4, Page 36, v. 4, n. 4, p. 36, 1 dez. 2017. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2297-8739/4/4/36/htm>>. Acesso em: 30 nov. 2025.

KHEZELI, T.; DANESHFAR, A. Development of dispersive micro-solid phase extraction based on micro and nano sorbents. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, v. 89, p. 99–118, 1 abr. 2017a. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0165993616303326?via%3Dihub>>. Acesso em: 30 nov. 2025.

KHEZELI, T.; DANESHFAR, A. Development of dispersive micro-solid phase extraction based on micro and nano sorbents. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, v. 89, p. 99–118, 1 abr. 2017b. Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0165993616303326?via%3Dihub>>.

Acesso em: 30 nov. 2025.

KHEZELI, T.; DANESHFAR, A.; KARDANI, F. In-situ functionalization of MnO₂ nanoparticles by natural tea polyphenols: A greener sorbent for dispersive solid-phase extraction of parabens from wastewater and cosmetics. *Microchemical Journal*, v. 190, p. 108751, 1 jul. 2023a. Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0026265X23003697>>.

Acesso em: 3 nov. 2025.

KHEZELI, T.; DANESHFAR, A.; KARDANI, F. In-situ functionalization of MnO₂ nanoparticles by natural tea polyphenols: A greener sorbent for dispersive solid-phase extraction of parabens from wastewater and cosmetics. *Microchemical Journal*, v. 190, p. 108751, 1 jul. 2023b. Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0026265X23003697>>.

Acesso em: 15 jul. 2025.

KIM, M. J.; KIM, C. H.; AN, M. J.; LEE, J. H.; SHIN, G. S.; SONG, M.; KIM, J. W. Ethylparaben induces apoptotic cell death in human placenta BeWo cells via the Caspase-3 pathway. *Animal Cells and Systems*, v. 24, n. 1, p. 34–43, 2 jan. 2020. Disponível em: <<https://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.1080/19768354.2020.1711804>>. Acesso em: 9 jun. 2025.

KUMAR, N.; YADAV, N.; AMARNATH, N.; SHARMA, V.; SHUKLA, S.; SRIVASTAVA, A.; PRASAD, P.; KUMAR, A.; GARG, S.; SINGH, S.; SEHRAWAT, S.; LOCHAB, B. Integrative natural medicine inspired graphene nanovehicle-benzoxazine derivatives as potent therapy for cancer. *Molecular and Cellular Biochemistry*, v. 454, n. 1–2, p. 123–138, 15 abr. 2019.

LEE, Y. H.; LIN, Y. C.; FENG, C. H.; TSENG, W. L.; LU, C. Y. A derivatization-enhanced detection strategy in mass spectrometry: analysis of 4-hydroxybenzoates and their metabolites after keratinocytes are exposed to UV radiation. *Scientific Reports 2017 7:1*, v. 7, n. 1, p. 39907–, 6 jan. 2017. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/srep39907>>. Acesso em: 30 nov. 2025.

LIU, C.; QIU, S.; DU, P.; ZHAO, H.; WANG, L. An ionic liquid–graphene oxide hybrid nanomaterial: synthesis and anticorrosive applications. *Nanoscale*, v. 10, n. 17, p. 8115–8124, 3 maio 2018. Disponível em:

<<https://pubs.rsc.org/en/content/articlehtml/2018/nr/c8nr01890a>>. Acesso em: 9 jun. 2025.

LIU, W.; ZHOU, Y.; LI, J.; SUN, X.; LIU, H.; JIANG, Y.; PENG, Y.; ZHAO, H.; XIA, W.; LI, Y.; CAI, Z.; XU, S. Parabens exposure in early pregnancy and gestational diabetes mellitus.

Environment International, v. 126, p. 468–475, 1 maio 2019. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30844582/>>. Acesso em: 5 nov. 2025.

MANOUSHI, N.; PLASTIRAS, O. E.; DELIYANNI, E. A.; ZACHARIADIS, G. A. Green Bioanalytical Applications of Graphene Oxide for the Extraction of Small Organic Molecules. *Molecules* 2021, Vol. 26, Page 2790, v. 26, n. 9, p. 2790, 9 maio 2021. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/1420-3049/26/9/2790/htm>>. Acesso em: 30 nov. 2025.

MARANATA, G. J.; SURYA, N. O.; HASANAH, A. N. Optimising factors affecting solid phase extraction performances of molecular imprinted polymer as recent sample preparation technique. *Heliyon*, v. 7, n. 1, 1 jan. 2021. Disponível em: <<https://www.cell.com/action/showFullText?pii=S2405844021000396>>. Acesso em: 29 nov. 2025.

MARTINS, R. O.; LANÇAS, F. M. Microextraction by packed sorbent: Introducing a novel hybrid silica-based chitosan-graphene oxide biosorbent for the evaluation of pesticides and antibiotics in food matrices. *Advances in Sample Preparation*, v. 12, p. 100134, 1 out. 2024. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2772582024000329>>. Acesso em: 25 nov. 2025.

MEROLA, C.; LAI, O.; CONTE, A.; CRESCENZO, G.; TORELLI, T.; ALLORO, M.; PERUGINI, M. Toxicological assessment and developmental abnormalities induced by butylparaben and ethylparaben exposure in zebrafish early-life stages. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, v. 80, p. 103504, 1 nov. 2020. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1382668920301800?via%3Dihub>>. Acesso em: 9 jun. 2025.

NEMATİ, M.; ZAYER, A.; HAMIDI, S. Amin-modified graphene oxide as a promising adsorbent for selective extraction of dexamethasone adulterant from herbal supplements. *Turkish Journal of Chemistry*, v. 46, n. 5, p. 1744–1754, 1 jan. 2022. Disponível em: <<https://journals.tubitak.gov.tr/chem/vol46/iss5/35>>. Acesso em: 30 nov. 2025.

NISHIHAMA, Y.; TOSHIMA, H.; YOSHINAGA, J.; MIZUMOTO, Y.; YONEYAMA, M.; NAKAJIMA, D.; SHIRAIISHI, H.; TOKUOKA, S. Paraben exposure and semen quality of Japanese male partners of subfertile couples. *Environmental health and preventive medicine*, v. 22, n. 1, 2017. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29165110/>>. Acesso em: 5 nov. 2025.

NISHIHAMA, Y.; YOSHINAGA, J.; IIDA, A.; KONISHI, S.; IMAI, H.; YONEYAMA, M.; NAKAJIMA, D.; SHIRAIISHI, H. Association between paraben exposure and menstrual cycle in female university students in Japan. *Reproductive Toxicology*, v. 63, p. 107–113, 1 ago. 2016. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0890623816301162?casa_token=LJB-aAMATuQAAAAA:vNeNI2tKQjfXb8mjRWRTUvx88zmJNjlcNxvGGIjJHg4i9xTJ3MV6ZouIrlrWOcGOFPWamx5>. Acesso em: 5 nov. 2025.

NOWAK, K.; JABŁOŃSKA, E.; RATAJCZAK-WRONA, W. Controversy around parabens: Alternative strategies for preservative use in cosmetics and personal care products. *Environmental Research*, v. 198, p. 110488, 1 jul. 2021. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0013935120313852?via%3Dihub>>.

Acesso em: 24 nov. 2025.

OLIVEIRA, T. C.; LANÇAS, F. M. Determination of selected herbicides in sugarcane-derived foods by graphene-oxide based disposable pipette extraction followed by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, v. 1687, p. 463690, 4 jan. 2023. Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021967322008810>>. Acesso em: 24 nov. 2025.

ÖZTÜRK ER, E. Graphene Oxide as a Highly Efficient and Reusable Adsorbent for Simultaneous Removal of Parabens: Optimization by Response Surface Methodology, Adsorption Isotherms and Reusability Studies. *Adsorption* 2024 31:1, v. 31, n. 1, p. 24-, 19 dez. 2024. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s10450-024-00581-5>>.

Acesso em: 30 nov. 2025.

Panorama do Setor 2025 – ABIHPEC. Disponível em: <<https://abihpec.org.br/publicacao/panorama-do-setor-25/>>. Acesso em: 4 nov. 2025.

POOLE, C. F.; POOLE, S. K. Principles and Practice of Solid-Phase Extraction. *Comprehensive Sampling and Sample Preparation: Analytical Techniques for Scientists*, p. 273–297, 1 jan. 2012. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/chapter/referencework/abs/pii/B9780123813732000417?via%3Dihub>>. Acesso em: 30 nov. 2025.

SCHMITT, P.; FISCHER, A. F.; DA SILVA, R. M. L.; CRUZ, A. B. Compatibility and efficiency of preservatives in emulsive cosmetics containing high surfactant content. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 58, 2022.

SEMENOV, S. N.; KOZIEL, J. A.; PAWLISZYN, J. Kinetics of solid-phase extraction and solid-phase microextraction in thin adsorbent layer with saturation sorption isotherm. *Journal of Chromatography A*, v. 873, n. 1, p. 39–51, 17 mar. 2000. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021967399013382?casa_token=V3jFL6PsH8MAAAAA:CdoamISV0DNecdHHsNwPrEK7y0Jikt3jaVqkQKXW1CUd6fdBwYOnmahUiKmpwLVuGUx4C2x3>. Acesso em: 6 nov. 2025.

SHARMA, S. Personal Care Products: Occurrence, Toxicity, and Risks. *Em: Management of Contaminants of Emerging Concern (CEC) in Environment*. [s.l.] Elsevier, 2021. p. 205–223.

SIQUEIRA, S. A.; FERNANDES, C.; CÉSAR, I. C. Microextraction by packed sorbent and high performance liquid chromatography for simultaneous determination of lumefantrine and desbutyl-lumefantrine in plasma samples. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, v. 190, p. 113486, 25 out. 2020. Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0731708520313728>>. Acesso em: 30 nov. 2025.

SKOOG, D. A. ; WEST, D. M. ; HOLLER, F. James.; CROUCH, S. R. . Fundamentals of analytical chemistry. . p. 933, 2022. . Acesso em: 30 nov. 2025.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; CROUCH, S. R. Instrumental Analysis Principles. Veronika R. Meyer, p. 429, 2018. . Acesso em: 5 nov. 2025.

SUN, Y.; LV, Z.; SUN, Z.; WU, C.; JI, Z.; YOU, J. Determination of thiophenols with a novel fluorescence labelling reagent: analysis of industrial wastewater samples with SPE extraction coupled with HPLC. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 2016 408:13, v. 408, n. 13, p. 3527–3536, 11 mar. 2016. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s00216-016-9429-8>>. Acesso em: 29 nov. 2025.

Survey of parabens - Miljøstyrelsen. Disponível em: <<https://mst.dk/publikationer/2013/april/survey-of-parabens>>. Acesso em: 9 jun. 2025.

VARGAS MEDINA, D. A.; CARDOSO, A. T.; MACIEL, E. V. S.; LANÇAS, F. M. Current materials for miniaturized sample preparation: Recent advances and future trends. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, v. 165, p. 117120, 1 ago. 2023. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0165993623002078?via%3Dihub>>. Acesso em: 9 jun. 2025.

WEI, F.; MORTIMER, M.; CHENG, H.; SANG, N.; GUO, L. H. Parabens as chemicals of emerging concern in the environment and humans: A review *Science of the Total Environment* Elsevier B.V., 15 jul. 2021.