



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

ESTUDO DE BIOPOLÍMERO TERRA DIATOMÁCEA
COMO FASE EXTRATORA PARA MICROEXTRAÇÃO EM FASE
SÓLIDA.

NAYSLA PAULO REINERT

Florianópolis – SC
2017

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

Reinert, Naysla Paulo
ESTUDO DE BIOPOLÍMERO TERRA DIATOMÁCEA COMO FASE
EXTRATORA PARA MICROEXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA / Naysla
Paulo Reinert ; orientador, Eduardo Carasek da
Rocha, 2017.
69 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de
Santa Catarina, Centro de Ciências Físicas e
Matemáticas, Programa de Pós-Graduação em Química,
Florianópolis, 2017.

Inclui referências.

1. Química. 2. Terra diatomácea. 3. Microextração
em Fase Sólida. 4. Hidrocarbonetos Policíclicos
Aromáticos. 5. Preparo de amostra. I. da Rocha,
Eduardo Carasek. II. Universidade Federal de Santa
Catarina. Programa de Pós-Graduação em Química. III.
Título.

Naysla Paulo Reinert

**ESTUDO DE BIOPOLÍMERO TERRA DIATOMÁCEA COMO
FASE EXTRATORA PARA MICROEXTRAÇÃO EM FASE
SÓLIDA**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Química da
Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do Grau de
Mestre em Química Analítica.

Florianópolis, 17 de Outubro de 2017.

Prof., Dr. Vanderlei Gageiro Machado
Coordenador do Curso

Prof. Dr. Eduardo Carasek da Rocha
Orientador

Banca Examinadora:

Prof., Dr. Eduardo Carasek da Rocha

Prof., Dr. Luciano Vitali

Prof. Dr. Waldemar Pacheco de Oliveira Filho

“A ciência humana de maneira nenhuma nega a existência de Deus. Quando considero quantas e quão maravilhosas coisas o homem compreende, pesquisa e consegue realizar, então reconheço claramente que o espírito humano é obra de Deus, e a mais notável.”
(Galileu Galilei)

Agradecimentos

Primeiramente agradeço a Deus pela vida, e pelas bênçãos que me foi concedida, pelas oportunidades as quais Ele me deu!

Quero agradecer aos meus pais, Sandra e Lincon, por serem as pessoas mais importantes na minha vida, por se mostrarem meus melhores amigos, e por estarem sempre do meu lado me apoiando. Por lutarem comigo, vibrarem comigo por cada conquista alcançada. Vocês são o ar que respiro, obrigada infinitamente, por simplesmente existirem! Amo vocês!

Aos meus familiares, tanto maternos quanto paternos, que mesmo distante, sei que sempre oraram por mim, torceram por mim e acreditaram em mim, vocês são a base de tudo o que sou hoje. Obrigada!

Agradeço ao meu namorado Eduardo, por ser paciente, pela sua preocupação, carinho e dedicação a mim, por ser meu companheiro e por me apoiar sempre nessa caminhada, obrigada! Amo você!

Ao meu orientador Professor Dr. Eduardo Carasek, pela oportunidade, incentivo e interesse no desenvolvimento desse trabalho, meu muito obrigada!

A Professora Dra. Adriana Neves Dias, que me ajudou nesse trabalho, pela paciência, pelos livros emprestados (vou te devolver, prometo) e pela amizade, pelo carinho e dedicação que você teve a mim, eu te agradeço imensamente! Obrigada!

Aos meus amigos do lab 209, muito obrigada pelo aprendizado, pelos conselhos, pelos momentos de descontração, e pela amizade! Vocês fizeram dos meus dias de estudo e trabalho muito mais agradáveis!

Aos meus amigos, que sempre me ajudaram, que foram meu suporte quando eu mais precisei. Vocês são demais!

A UFSC, pelo espaço físico concedido e pela formação dada a mim. Aos professores do programa de Pós Graduação que compartilharam seus conhecimentos, e colaboraram para a minha formação, obrigada!

RESUMO

Neste estudo foi proposto pela primeira vez o uso de terra diatomácea reciclada como fase extratora para a técnica de microextração em fase sólida (SPME). A terra diatomácea reciclada como fase extratora em SPME foi utilizada para a determinação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em amostras de água ultra-pura e água de rio por cromatografia gasosa, utilizando dois tipos de detectores, o detector por ionização em chama FID, para reprodutibilidade das fibras e o cromatógrafo a gás acoplado ao espectrômetro de massas (GC-MS) para a otimização e validação do método.. O biossorvente terra diatomácea reciclada foi caracterizada através de espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier e microscopia de varredura eletrônica. A otimização multivariada através do composto central foi realizada para os parâmetros de tempo de extração e temperatura de extração. A otimização da adição de sal foi avaliada univariavelmente. As condições otimizadas para esse estudo foram de 70 min para o tempo de extração, 80 °C para a temperatura de extração e 0g de adição de sal (NaCl). Através da condição compromisso para a análise, foram realizadas comparações entre a fibra de terra diatomácea reciclada com as fibras comerciais PDMS 100 µm e PDMS/DVB 65 µm, onde a fibra de terra diatomácea teve eficiência de extração similar para os primeiros compostos quando comparado com a PDMS/DVB e maior eficiência de extração quando comparada com a PDMS. Também a partir da otimização foi construída a curva de calibração para os compostos estudados em amostras de água do rio Itajaí, em Santa Catarina, Brasil com faixa linear de 0,5 µg L⁻¹ a 25 µg L⁻¹, em 6 níveis de concentração sendo obtidos coeficiente de correlação superior a 0,95, limites de detecção de 0,03 - 0,17 µg L⁻¹ e limites de quantificação 0,10 – 0,50 µg L⁻¹, com n=3. Para os ensaios de repetibilidade e reprodutibilidade com concentração de 0,5 µg L⁻¹, os valores de RSD foram ≤ 15% para a reprodutibilidade entre duas fibras e ≤ 17% (n=3) para a repetibilidade na fibra 1. Foram comparados as faixas lineares do método proposto com a fibra terra diatomácea reciclada com artigos publicados na literatura utilizando fibras comerciais, onde os resultados encontrados são similares aos dados da literatura.

Palavras chave: SPME, terra diatomácea reciclada, HPA, água de rio, preparo de amostra.

ABSTRACT

In this study, the use of recycled diatomaceous earth as extraction phase for solid phase microextraction (SPME) was proposed for the first time. The diatomaceous earth recycled as an extractive phase in SPME was used for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in samples of ultra-pure water and river water by gas chromatography using two types of detectors, the flame ionization detector FID, for reproducibility of fibers and the gas chromatograph coupled to the mass spectrometer (GC-MS) for the optimization of the method and for the figures of merit. The biosorbent recycled diatomaceous earth was characterized by infrared spectroscopy with Fourier transform and scanning electron microscopy. The multivariate optimization through the central compound was carried out where the parameters extraction time and temperature of extraction were evaluated, when the addition of salt the optimization was evaluated univariably. The optimized conditions for this study were 70 min for the extraction time, 80°C for the extraction temperature and 0 g for the addition of salt (NaCl). Through the compromise condition for the analysis, comparisons were made between diatomaceous earth fiber recycled with the commercial fibers PDMS 100 μm and PDMS / DVB 65 μm , where the diatomaceous earth fiber had similar extraction efficiency for the first compounds when compared with to PDMS / DVB and higher extraction efficiency when compared to PDMS. The calibration curve was also constructed for the compounds studied in water samples from the Itajaí River, in Santa Catarina, Brazil, with a linear range of 0.5 $\mu\text{g L}^{-1}$ to 25 $\mu\text{g L}^{-1}$, in 6 levels of concentration coefficient being higher than 0.95, detection limits of 0.03-0.17 $\mu\text{g L}^{-1}$ and limits of quantification 0.10-0.50 $\mu\text{g L}^{-1}$, with $n = 3$. For repeatability and reproducibility tests, RSD values were $\leq 15\%$ for reproducibility between two fibers and $\leq 17\%$ ($n = 3$) for repeatability in fiber 1, the concentration used in this analysis being 0.5 $\mu\text{g L}^{-1}$. The linear ranges of the proposed method with recycled diatomaceous earth fiber were compared with articles published in the literature using commercial fibers, where the results found are similar to the literature data.

Key word: SPME, diatomaceous, PAH, water, sample preparation.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. (A) Amostrador, êmbolo, agulha, tubo hipodérmico e fibra exposta, (B) composição da fibra de SPME. Adaptado de Orlando et al, 2009.....	24
Figura 2. Representação dos modos de extração por SPME. (A) Modo de extração por imersão direta. (B) Modo de extração por “headspace” (C) Modo de extração por MP-SPME. Fonte: Dias, 2015.....	25
Figura 3. Guia para a seleção do revestimento.....	28
Figura 4. Micrografias referentes as subclasses da Bacillariophyceae. Na Figura A está representado a subclasse Centricae com frústulas cilíndricas e na Figura B está representado a subclasse Pennales com frústulas não cilíndricas.....	31
Figura 5. Etapas de produção da fibra de diatomácea. Adaptado de Dias, A. 2015.....	43
Figura 6. Mapa onde estão indicados as localizações de coletas de amostras no rio Itajaí Açú, Navegantes, Santa Catarina, Brasil.	45
Figura 7. Mapa onde estão indicado as localizações de coletas de amostras na Baía de São Francisco, em São Francisco do Sul, Santa Catarina, Brasil.....	46
Figura 8. TGA realizado após o tratamento térmico. Autoria própria, 2017.....	48
Figura 9. Infravermelho do pó da terra de diatomácea. Autoria própria, 2017.....	49
Figura 10. Micrografia da fibra de diatomácea obtida através de microscopia de varredura eletrônica. (A) magnificação de 2000x e (B) magnificação of 4000x. Autoria própria, 2017.	50
Figura 11. Espessura do recobrimento da terra diatomácea na fibra de NiTi, magnificação 100x. Autoria própria, 2017.	50
Figura 12. Superfície de resposta obtida na extração dos HPAs por DI-SPME, tendo como parâmetros avaliados o tempo total de extração e a temperatura de extração. Autoria própria, 2017.....	51
Figura 13. Comparação das respostas obtidas pela fibra de diatomácea, PDMS/DVB e PDMS para a determinação de HPAs em água de rio enriquecida por DI-SPME. Autoria própria, 2017.	53

Figura 14. Cromatograma obtido após a extração por DI-SPME em amostra de água do rio Itajaí/SC fortificada com 10 µg.L⁻¹. Analitos: 1 – Acenaftileno (tR= 13,5 min), 2 – Fluoreno (tR= 17 min), 3 – Fenantreno (tR= 20,5 min), 4 – Antraceno (tR= 20,7 min), 5 – Pireno (tR= 25,8 min), 6 - Benzo(a)antraceno (tR= 30,9 min) , 7 – Criseno (tR= 31 min), 8 - Benzo(b)fluoranteno (tR= 34,8 min), 9 - Benzo(k)fluoranteno (tR= 34,2 min), 10 - Benzo(a)pireno (tR= 36 min).57

Figura 15. Gráfico de barras referente a reprodutibilidade da fibra de terra diatomácea reciclada (fibras 1 e 2) com as respostas obtidas após a extração por DI-SPME e determinação por GC-MS.....58

Figura 16. Gráfico de barras referente a repetibilidade da fibra de terra diatomácea reciclada (fibra 2) com as respostas obtidas após a primeira extração em triplicata, por DI-SPME e determinação por GC-MS.... 58

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Tipos de recobrimento, faixas recomendadas de temperatura e pH, temperaturas máxima, polaridade e mecanismo de extração de fibras comerciais.	29
Tabela 2. Principal composição química de terra diatomácea.....	32
Tabela 3. Nome, estrutura química, fórmula molecular e massa molar dos analitos que foram estudados neste trabalho,.....	34
Tabela 4. Lista de HPAs estudados quanto a sua carcinogenicidade (IARC), carcinogenicidade e ocorrência (EPA).	36
Tabela 5. Lista de HPAs em que há o limite máximo como resíduos em amostras de rios, pela EPA e pelo CONAMA.	37
Tabela 6. Razões massa cargas estudadas.	42
Tabela 7. Planejamento composto central empregado para otimização da extração de HPAs em amostras de água por DI-SPME com fibra de terra diatomácea reciclada.	44
Tabela 8. Coordenadas dos locais das amostras coletadas nos municípios de Navegantes e São Francisco do Sul - Santa Catarina, Brasil.	45
Tabela 9. Faixa linear, limite de detecção e quantificação e coeficiente de correlação obtido para o método proposto utilizando como fibra a terra diatomácea para a determinação de HPAs em amostras de água de rio.	55
Tabela 10. Concentração na amostra do rio Itajaí, com as precisões intraday e interday (RSD, %) utilizando o método proposto. ND (não detectado) e DE (detectado).....	56
Tabela 11. Precisão intermediária referente a reprodutibilidade entre as fibras 1 e 2 com terra diatomácea reciclada.	59
Tabela 12. Comparação entre estudos descritos na literatura e o método proposto empregando fibra de terra diatomácea reciclada na determinação de HPAs em amostras aquosas.	60

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

SPME	Microextração em Fase Sólida, <i>do inglês Solid-Phase Microextraction</i>
HPA	Hidrocarbonetos Policíclicos aromáticos
LLE – LLE	Extração Líquido-Líquido, <i>do inglês Liquid-Liquid Extraction</i>
PDMS	Polidimetilsiloxano
PDMS/DVB	Polidometilsiloxano/Divinilbenzeno
DVB/Car/PDMS	Divinilbenzeno / Carboxen / Podimetilsiloxano
HPLC – HPLC	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência, <i>do inglês High-Performance Liquid Chromatography</i>
DI-SPME – DI	Imersão direta, <i>do inglês Direct Immersion</i>
HS-SPME – HS	<i>do inglês Headspace</i>
CAR	Carboxen
PA	Poliacrilato
PEG	Polietilenoglicol
NiTi	Níquel/Titânio
FID	Detector por Ionização em chama, <i>do inglês flame ionization detector.</i>
GC	Cromatografia Gasosa, <i>do inglês Gas Chromatography</i>
GC-MS	Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas, <i>do inglês Gas Chromatography with Mass Spectrometry</i>
<i>Soxhlet</i>	Extração Sólido-Líquido
LOD	Limite de detecção, <i>do inglês Limit of detection</i>
LOQ	Limite de quantificação, <i>do inglês Limit of quantification</i>
UTM	Universal Transversa de Mercator

SUMÁRIO

1. JUSTIFICATIVA	21
2. REVISÃO DA LITERATURA	23
2.1 PREPARO DE AMOSTRA	23
2.2 MICROEXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA (SPME)	23
2.2.1 TIPOS DE FIBRAS E REVESTIMENTO PARA SPME	27
2.3 BÍOSSORVENTES	30
2.4 TERRA DIATOMÁCEA	31
2.5 HPAS	32
3. OBJETIVOS	39
3.1 OBJETIVO GERAL	39
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	39
4. METODOLOGIA	41
4.1 REAGENTES E MATERIAIS	41
4.1.2 INSTRUMENTAÇÃO	41
4.1.3 PREPARO DA FIBRA DE TERRA DIATOMÁCEA	43
4.1.4 OTIMIZAÇÃO DO PROCEDIMENTO DI-SPME PARA DETERMINAÇÃO DE HPAS EM AMOSTRAS DE ÁGUA	44
4.1.5 PREPARO DE AMOSTRA EM ÁGUA ULTRAPURA NAS CONDIÇÕES OTIMIZADAS	44
4.1.6 AMOSTRA	45
4.1.7 COMPARAÇÃO DA FIBRA DIATOMÁCEA COM FIBRAS COMERCIAIS	46
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	47
5.1 CARACTERIZAÇÃO DA FIBRA DIATOMÁCEA	47
5.2 OTIMIZAÇÃO DAS CONDIÇÕES DE EXTRAÇÃO POR DI-SPME	51
5.3 COMPARAÇÃO DA FIBRA DE DIATOMÁCEA COM FIBRAS COMERCIAIS	52
5.4 FIGURAS DE MÉRITO E APLICAÇÃO DO MÉTODO	53
5.5 COMPARAÇÃO NA EFICIÊNCIA DE EXTRAÇÃO PARA AVALIAÇÃO DA REPRODUTIBILIDADE E REPETIBILIDADE DAS FIBRAS DE DIATOMÁCEA RECICLADAS.	57
5.6 COMPARAÇÃO DE ESTUDOS DESCRITOS NA LITERATURA	59
6. CONCLUSÃO	63
7. REFERÊNCIAS	65

1. JUSTIFICATIVA

Na sociedade em que vivemos a água passou a ser usada descomedidamente devido ao crescimento populacional acentuado e desordenado. Além disso, o aumento do consumo de água por habitante, leva a escassez dos recursos hídricos assim como a poluição e contaminação por fatores antropológicos de águas superficiais e subterrâneas ^{1,2}.

Devido a esses fatores e ao impacto causado na saúde pública, houve uma crescente preocupação com a qualidade da água, sendo propostas uma série de medidas governamentais para monitorar as concentrações de compostos que podem ser prejudiciais à saúde como também um crescimento no campo de pesquisas que envolvem o monitoramento e determinação de contaminantes. Essas normas visam garantir a qualidade de água para o consumo humano ³.

Um dos principais poluentes da água são os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, HPA, no qual alguns estudos associam às águas contaminadas por esses compostos com problemas causados na saúde dos seres vivos ^{4,5,6}.

A determinação desses poluentes geralmente requer um pré-tratamento de amostra, para que sejam removidos interferentes da matriz que podem afetar a identificação e quantificação, além de isolar e pré-concentrar os analitos. Os métodos tradicionais de preparo de amostras como a extração líquido-líquido (LLE) requer uma grande quantidade de solventes orgânicos, possuindo um elevado custo, além da dificuldade de automação desse método de extração. Pensando em minimizar volumes de solvente orgânico tempo do analista no preparo de amostra, algumas técnicas miniaturizadas foram desenvolvidas a fim de facilitar esse processo, visto que essas técnicas são rápidas, precisas, exatas e possíveis de serem automatizadas⁶. Dentre as técnicas miniaturizadas já desenvolvidas, a que se destaca nesse trabalho é a microextração em fase sólida (SPME, do inglês *solid phase microextraction*). A SPME foi desenvolvida no início dos anos 1990 por Pawliszyn e colaboradores⁹ visando melhorar as vantagens e diminuir as limitações das técnicas de preparo de amostra tradicionais.

A SPME é uma técnica de extração e pré-concentração da amostra, que dispensa a utilização de solventes, além de ser simples e rápida. Essa técnica está baseada na sorção de analitos em uma fibra de sílica fundida quimicamente modificada, revestida por um material sorvente como polidimetilsiloxano (PDMS), poliacrilato entre outros, sendo tais sorventes disponíveis comercialmente⁷.

Visando investigar novos materiais sorventes para a extração por SPME, os biossorventes vêm ganhando destaque nas técnicas de microextração por serem fases extratoras verdes, renováveis e biodegradáveis. Muitos desses biossorventes são encontrados na natureza sendo os mesmos formados por macromoléculas contendo vários grupos funcionais capazes de interagir com os poluentes ambientais de diferentes formas como adsorção, quimissorção, complexação, permuta iônica, entre outros⁸. Neste trabalho o biossorvente escolhido para a extração dos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos foi a terra diatomácea reciclada, sendo essa utilizada em diversas áreas como na clarificação da cerveja ou adsorção de metais. A terra diatomácea contém minerais em sua composição podendo estar em forma de cilindros muito pequenos e ocos que atuam como uma esponja, adsorvendo uma grande quantidade de líquidos equivalentes ao seu peso, além de possuir como característica uma elevada área superficial específica²² e ser um material de baixo custo comparado com as fases extratoras comerciais. Nesse trabalho foi testada pela primeira vez a terra diatomácea reciclada como fase extratora para a SPME.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Preparo de amostra

O preparo de amostra é a etapa que antecede a análise instrumental e a parte mais laboriosa. É necessário que tenha uma preparação de amostra, pois isso significa ajustar a mesma para a introdução no instrumento de análise evitando interferentes e contaminações nas colunas, reduzindo a complexidade de matrizes como sangue, urina, entre outros, além de pré-concentrar os analitos.⁹. Dependendo do tipo de matriz, alguns analitos na fase de gases e/ou vapores, não precisam de nenhum tipo de tratamento prévio, podendo ser analisados diretamente no equipamento. É necessário saber as características da matriz, dos analitos e a instrumentação disponível no laboratório para o tratamento de amostra seja corretamente empregado.^{5,10}

Nas últimas décadas do século XX, houve um grande progresso na tecnologia de instrumentação analítica, sem dar a devida importância para o preparo de amostra⁵. Em consequência disso e em busca de um preparo de amostra com menor impacto ambiental, pesquisas de técnicas de preparo de amostras foram realizadas, tornando-se mais eficazes, menos laboriosos quanto ao tempo de extração e ao trabalho do analista e utilizando pouca ou nenhuma quantidade de solventes orgânicos^{11,12}.

Dentre as técnicas desenvolvidas, as que ganharam destaque foram às chamadas técnicas miniaturizadas de preparo de amostra, entre elas está a SPME⁵.

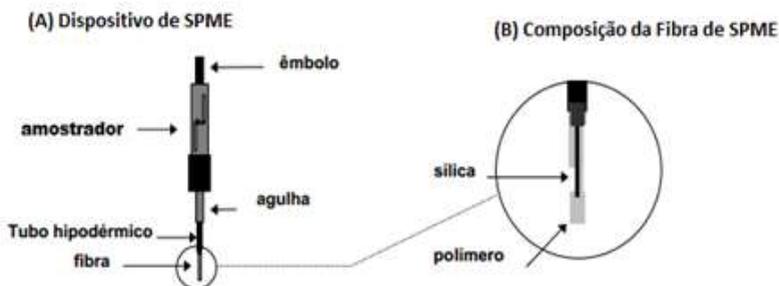
2.2 Microextração em fase sólida (SPME)

A SPME foi desenvolvida no início dos anos 1990 por Arthur e Pawlyszin para substituir os chamados métodos convencionais de extração (extração líquido-líquido e extração por fase sólida)^{13,14,15}. Em comparação aos métodos tradicionais de preparo de amostra, a SPME é uma técnica menos laboriosa, relativamente rápida e com boa capacidade de concentração, requerendo pequenos volumes de amostra, sem a necessidade do uso de solvente orgânico¹⁶. Esse tipo de microextração envolve a adsorção/absorção de analitos por uma haste de sílica fundida de 100 µm de diâmetro revestida por um fino filme polimérico, no qual após a extração é levado imediatamente para a dessorção em um cromatógrafo a gás ou HPLC. Existem diversos tipos

de revestimentos poliméricos, podendo ser comerciais como por exemplo, PDMS, PDMS/DVB, DVB/Car/PDMS ¹⁷, revestimentos “verdes” como biosorventes ⁸, sol-gel suportados por um fio de NiTi (nitinol) ^{18,19}, entre outros.

O princípio da técnica de SPME baseia-se no equilíbrio de partição/distribuição dos analitos entre a matriz e a fase extratora, no qual, a fase extratora é exposta à amostra para extrair os analitos. A fibra de SPME, consta com um suporte de sílica fundida acondicionada dentro de uma espécie de agulha em um amostrador semelhante a uma seringa para facilitar o manuseio, já que o dispositivo da fibra não pode ser manipulado diretamente. Na Figura 1 (A) e (B), é representado o amostrador juntamente com a agulha e a fibra exposta.

Figura 1. (A) Amostrador, êmbolo, agulha, tubo hipodérmico e fibra exposta, (B) composição da fibra de SPME.



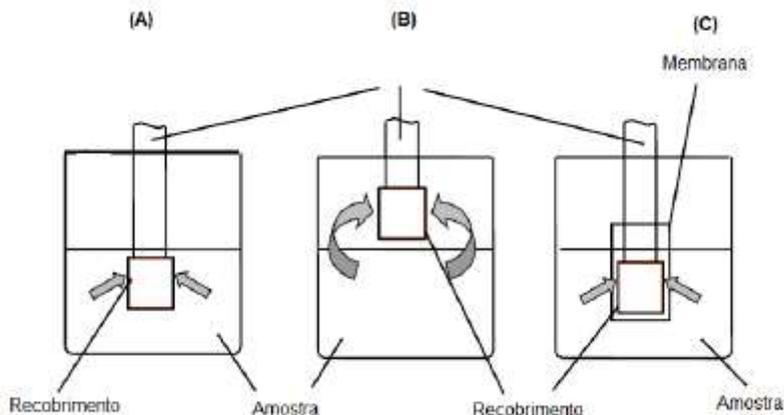
Fonte: Adaptado de Orlando et al, 2009.

No corpo do amostrador existe uma fenda em forma de Z, que corre um pino, preso ao êmbolo, servindo para deslocar ou retrain a fibra do tubo hipodérmico. Para expor a fibra o êmbolo é deslocado até atingir o corte transversal da fenda ¹⁹.

Para esta técnica uma importante variável que deve ser considerada são os modos de extração. Existem três modos de extração por SPME. Imersão direta (DI), no qual a fibra é imersa diretamente na matriz, por *headspace* (HS) a qual se constitui como a fase vapor em contato com uma porção da amostra lacrada em um recipiente confinado e a MP-SPME, microextração em fase sólida protegida por membrana (do inglês, *Membrane-Protected* SPME), nesse modo de extração a membrana é disposta ao redor da fibra afim de proteger a mesma quanto feita a extração nas amostras contendo ácidos húmicos, proteínas ou ácidos graxos. ^{8,19}. Portanto, o modo de extração deve ser determinado

de acordo com a volatilidade e/ou complexidade da amostra⁸. Na Figura 2 estão representados os modos de extração DI, HS e Proteção de Membrana (MP-SPME).

Figura 2. Representação dos modos de extração por SPME. (A) Modo de extração por imersão direta. (B) Modo de extração por "headspace" (C) Modo de extração por MP-SPME.



Fonte: Dias, 2015.

Como descrito anteriormente, o princípio da SPME baseia-se no equilíbrio entre a matriz e a fase extratora, onde cada modo empregado há um sistema de equações que descrevem o equilíbrio.

O sistema de extração por HS-SPME é muito utilizado para amostras de compostos com média a alta volatilidade e baixa massa molar. Esse sistema de extração permite o estabelecimento do equilíbrio entre a matriz e o *headspace*, e o *headspace* e a fibra, sendo considerado esse um sistema trifásico.

Já o modo de extração por DI-SPME, é muito utilizado para compostos com baixa volatilidade e de média a alta massa molar, sendo a matriz livre de material particulado que podem danificar a fibra. Na DI o processo de extração é considerado completo quando a concentração do analito atinge o equilíbrio entre a amostra e a fibra, sendo considerado esse um sistema bifásico.

No processo de microextração por imersão direta, podem ser considerados os seguintes equilíbrios e as respectivas constantes de equilíbrio entre o analito e a fibra, definidos na Equação (1).

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

Onde:

K_{fs} = Constante de equilíbrio entre a fibra e a amostra

C_s^∞ = concentração no equilíbrio do analito na amostra

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

fibra

Na Equação (2) são descritas as condições de equilíbrio conforme a lei de conservação das massas para esse sistema.

$$C_0 V_S = C_s^\infty V_S + C_f^\infty V_f \quad \text{Equação (2)}$$

Onde:

C_0 = concentração inicial do analito

V_S = volume da amostra

C_s^∞ = concentração no equilíbrio do analito na amostra

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

fibra

V_f = volume do recobrimento da fibra

Rearranjando as equações (1) e (2) afim de se obter a equação (3) é possível determinar a equação (4) e calcular a concentração no equilíbrio do analito extraído pelo recobrimento (C_f^∞).

A partir da equação (1) obtém-se:

$$C_s^\infty = \frac{C_f^\infty}{K_{fs}} \quad \text{Equação (3)}$$

Substituindo (3) em (2):

$$C_0 V_S = \frac{C_f^\infty V_S}{K_{fs}} + C_f^\infty V_f$$

$$C_0 V_S = \frac{C_f^\infty V_S + K_{fs} C_f^\infty V_f}{K_{fs}}$$

$$K_{fs} C_0 V_S = C_f^\infty V_S + K_{fs} C_f^\infty V_f$$

$$K_{fs} C_0 V_S = C_f^\infty (V_S + K_{fs} V_f)$$

$$C_f^\infty = C_0 \frac{K_{fs}V_s}{K_{fs}V_f + V_s} \quad \text{Equação (4)}$$

A Equação (5) relaciona o número de mols e concentração, no qual:

$$C_f^\infty = \frac{n_f}{V_f} \quad \text{Equação (5)}$$

Onde:

n_f = número de mols do analito no recobrimento da fibra

V_f = volume do recobrimento da fibra

Relacionando a Equação (4) com a Equação (5) é possível chegar a Equação (6) e com esta calcular o número de mols no equilíbrio do analito extraído pelo recobrimento.

Substituindo (5) em (4), obtém-se a Equação (6):

$$\frac{n_f}{V_f} = C_0 \frac{K_{fs}V_s}{K_{fs}V_f + V_s}$$

$$n_f = C_0 \frac{K_{fs}V_sV_f}{K_{fs}V_f + V_s} \quad \text{Equação (6)}$$

As Equações (4) ou (6), descrevem a massa do analito sorvida após o equilíbrio ser estabelecido, além de indicar que a quantidade de analito extraída (n_f ou C_f), pelo sorvente é linearmente proporcional a concentração inicial do analito na amostra (C_0), o que é a base analítica para a quantificação em SPME.

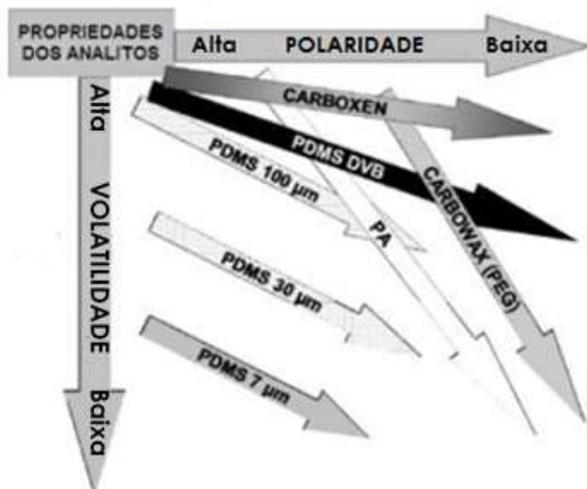
2.2.1 Tipos de fibras e revestimento para SPME

Diversos tipos de fibras para SPME são fabricadas podendo ter diferentes tamanhos. Normalmente são utilizadas fibras de 1 cm, mas podem existir fibras de até 2 cm de comprimento e com espessura de recobrimento podendo variar de 7 μm a 100 μm . Diversos revestimentos poliméricos e diferentes suportes para o recobrimento/fase extratora podem ser utilizados, como haste de sílica fundida, haste de metal e haste de *Stableflex*^{29,30}. Os revestimentos poliméricos comerciais podem ser: PDMS (polidimetilsiloxano), CAR (Carboxeno), DVB (divinilbenzeno), PA (poliacrilato) e PEG (polietilenoglicol).

O tipo de revestimento escolhido para as análises depende de quais compostos deseja-se determinar. Suas características como volatilidade e polaridade são de extrema importância antes de escolher

qual revestimento é mais adequado ao estudo. A Figura 5 ilustra o guia para a seleção do revestimento.

Figura 3. Guia para a seleção do revestimento.



Fonte: Pawliszyn, 2009.

A SPME tem a capacidade de extrair uma grande variedade de compostos, sendo esses compostos desde os mais voláteis aos menos voláteis, dos apolares aos polares. Sua capacidade de extração se dá pela combinação de outros revestimentos poliméricos em uma mesma fibra.

O êxito na escolha da fibra de SPME é determinado através das propriedades físico-químicas e pela espessura do recobrimento polimérico. O recobrimento polimérico determina a capacidade de extração do analito pela fibra, assim como o tempo de extração de equilíbrio. Recobrimentos com uma maior espessura atingem equilíbrios em um maior tempo do que recobrimento com uma menor espessura. Além do comprimento e espessura, diversas pesquisas têm desenvolvido novos sorventes para a SPME ²⁹.

O preparo de novos sorventes para a SPME utiliza de vários métodos para a deposição de recobrimentos sobre as fibras, como técnica de imersão, eletrodeposição, polímeros condutores, recobrimentos por sol-gel, adesão do recobrimento, entre outros.

A principal ideia de adesão do recobrimento é a deposição de uma fina camada de um material sorvente sobre uma haste de metálica utilizando um adesivo apropriado, tendo como vantagens baixo custo,

ampla disponibilidade de sorventes comerciais que possam possibilitar extrair analitos específicos além da flexibilidade na escolha da cola.

As fibras de SPME são reutilizáveis e apresentam boa reprodutibilidade e durabilidade do revestimento. O tempo de uso pode ser variável, geralmente sendo utilizadas de 40 a 100 extrações sem que haja algum prejuízo na sua capacidade de extração. Na Tabela 1, estão as características gerais das fibras comerciais, como faixa de temperatura, polaridade, faixa de pH recomendada e mecanismo de extração.

Tabela 1. Tipos de recobrimento, faixas recomendadas de temperatura e pH, temperaturas máxima, polaridade e mecanismo de extração de fibras comerciais.

Tipo de recobrimento	Mecanismo de extração	Polaridade	T _{máx} (°C)	Faixa de temperatura de operação recomendada	Faixa de pH recomendada
7 µm					
Polidimetilsiloxano (PDMS)	Absorção	Apolar	320	200 a 320	2 a 11
30 µm PDMS	Absorção	Apolar	300	200 a 300	2 a 11
100 µm PDMS	Absorção	Apolar	300	200 a 300	2 a 10
85 µm Poliacrilato (PA)	Absorção	Polar	320	200 a 320	2 a 11
60µm Polietilenoglicol (PEG)	Absorção	Polar	250	200 a 240	2 a 9
55µm/30µm DVB/Carboxen/PDMS	Adsorção	Bipolar	270	230 a 270	2 a 11
65µm PDMS/DVB	Adsorção	Bipolar	270	200 a 270	3 a 11
85 µm Carboxen/PDMS	Adsorção	Bipolar	320	250 a 320	4 a 11
Cortiça*	Adsorção	Apolar	260	N.D	2 a 12

Fonte: Pawliszyn (2009), *Dias, A. 2015.

N.D. não determinado

2.3 Biossorbentes

A busca por alternativas aos métodos de adsorção e absorção que possuam baixo custo e alta eficiência impulsionou, nos últimos anos, a pesquisa sobre a utilização de diferentes biossorbentes³².

Os biossorbentes abrangem toda biomassa com atividade metabólica (microrganismos vivos), ou sem atividade metabólica (resíduos oriundos de alguma forma biológica, como vegetais, crustáceos, etc), podendo ser utilizados em larga escala para a remoção de contaminantes orgânicos, corantes, metais, entre outros.

A preparação de biossorbentes consiste na execução de tratamentos físicos de baixo custo como, lavagem, secagem, trituração (se necessário), e peneiragem, gerando um produto granulado, que pode ser empregado como biossorvente^{32,33}.

Após a etapa de preparação dos biossorbentes é necessário que haja a caracterização do mesmo, afim de saber se o material produzido pode ser empregado como adsorvente para análise dos analitos de interesse. Essa caracterização compreende, análise da composição química e física do material biossorvente^{32,33,34}.

O tipo de adsorção dos compostos que se quer analisar pode ocorrer por diversos processos como, quimissorção, complexação, adsorção-complexação nos poros, troca iônica, e adsorção na superfície do material, sendo que a intensidade da capacidade de adsorção vai depender tanto das características físico-químicas do material adsorvente quanto das propriedades dos analitos³⁴.

Muitos biossorbentes são utilizados na forma imobilizada, onde um material inerte age como suporte para o biossorvente formando uma estrutura sólida, quimicamente e termicamente estável, facilitando o processo de extração dos analitos.

As principais vantagens no uso de materiais biossorbentes de baixo custo são:

- Valores muito baixos se comparados com os sorventes comerciais, pelo o fato de serem sobras de processos industriais ou até mesmo por estarem disponíveis na natureza;
- Normalmente o biossorvente utilizado tem origem regionalizada, ou seja, o material a ser utilizado está situada na mesma região ou próxima do analista.
- Podem ser reutilizados após o processo de dessorção (dependendo de sua estrutura, resistência química e térmica);

- Apresentam alta eficiência para a remediação de efluentes contendo baixas concentrações de contaminantes orgânicos.
- Possuem um grande número de sítios ativos e/ou poros em sua superfície facilitando a adsorção dos analitos.

2.4 Terra Diatomácea

A terra diatomácea é um mineral amorfo, originado de algas fossilizadas, pertencente ao reino vegetal *Chrysophyta* e a classe das *Bacillariophyceae*, ordem bacilares, possuindo células completas (membrana, núcleo e protoplasma).

A classe *Bacillariophyceae* apresenta duas subclasses, a *Centricae* (discóide), com frústulas cilíndricas, de seção circular, e a *Pennales* (navicular), que tem frústulas não cilíndricas. Na Figura 4, está representada as duas subclasses da diatomácea.

A terra diatomácea tem como principal composição dióxido de sílica, mas outros componentes podem estar presentes em menores quantidades²⁰ conforme mostrado na Tabela 2.

Figura 4. Micrografias referentes as subclasses da *Bacillariophyceae*. Na figura A está representado a subclasse *Centricae* com frústulas cilíndricas e na Figura B está representado a subclasse *Pennales* com frústulas não cilíndricas.

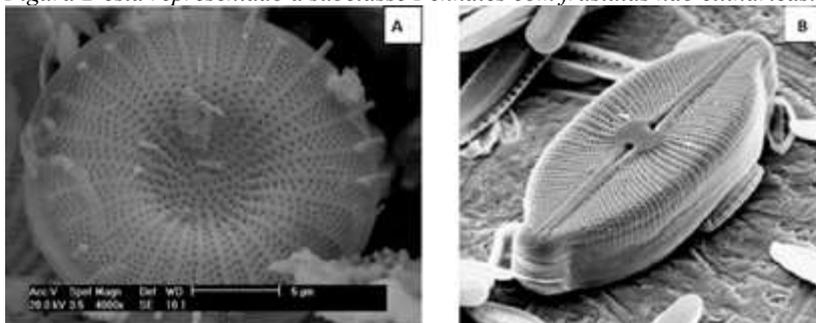


Tabela 2. *Principal composição química de terra diatomácea.*

Composição química	Porcentagem (%)
SiO ₂	87,92
Al ₂ O ₃	7,95
TiO ₂	0,12
Na ₂ O	0,23
K ₂ O	0,15
CaO	0,03
MgO	0,06
Fe ₂ O ₃	0,82

Fonte: Adaptado de Lima, C.P.I., 2005

As diatomáceas são minerais leves, de baixa massa molar, e sua coloração pode variar entre do branco ao cinza, onde a cor branca brilhante indica um alto grau de pureza do material. Possuem ainda como característica elevada área superficial específica entre 10 a 30m²/g e de baixa densidade podendo variar de 0,20 g/cm³ a 0,50g/cm³ quando calcinadas. São insolúveis em ácidos com exceção do hidrófluorídrico, apresenta baixa condutividade térmica e alta resistência a temperatura, seu ponto de fusão varia entre 1400°C a 1750°C, tendo uma alta absorção de líquidos.^{20,21}

Devido as propriedades físico-químicas da terra diatomácea, apresenta uma larga aplicabilidade em diversas áreas como no auxílio de filtração e clarificação de cerveja, isolamento térmico e acústico, como um adsorvente, separação de sólidos ultramicroscópicos, utilizando em aplicabilidade de géis para odontologia, adesivos, lubrificantes e na produção de capacitor cerâmico²².

2.5 HPAs

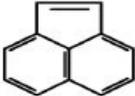
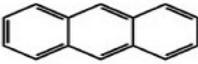
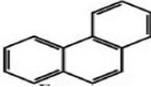
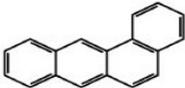
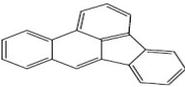
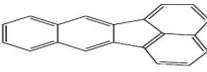
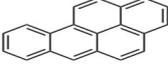
Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, mais conhecidos como HPAs, são contaminantes orgânicos persistentes de difícil degradação, bioacumulativo além de alguns apresentarem propriedades cancerígenas para o ser humano. Os HPAs são emitidos por fontes naturais, como vulcões ou por fontes antropogênicas como combustão incompleta de

óleos fósseis, queima de biomassa, queima de combustíveis, resíduos industriais, entre outros ^{23,24}.

HPAs são apolares e sua polaridade cresce conforme o número de anéis aromáticos condensados em sua estrutura aumenta. Podem ser divididos em dois grandes grupos: os grupos de baixa massa molar, podendo apresentar toxicidade aguda, sendo que esse grupo pode conter dois e três anéis aromáticos em sua estrutura e mais voláteis, e os HPAs com alta massa molar, esses tem baixa volatilidade e contém quatro ou mais anéis fundidos em sua estrutura. Eles são sólidos em temperatura ambiente, de cor amarelada possuindo um ponto de ebulição e fusão elevadas, além de ter baixa hidrossolubilidade e alta lipossolubilidade ^{2,9,25-27}.

Na Tabela 3, encontram-se os nomes dos compostos estudados nesse trabalho bem como sua estrutura química, fórmula molecular e massa molar.

Tabela 3. Nome, estrutura química, fórmula molecular e massa molar dos analitos que foram estudados neste trabalho.

Composto	Fórmula Molecular	Massa molar (g/mol)	Estrutura Química
Acenaftileno	C ₁₂ H ₁₈	152,19	
Fluoreno	C ₁₃ H ₁₀	166,22	
Antraceno	C ₁₄ H ₁₀	178,23	
Fenantreno	C ₁₄ H ₁₀	178,23	
Pireno	C ₁₆ H ₁₀	202,25	
Benzo(a)antraceno	C ₁₈ H ₁₂	228,29	
Criseno	C ₁₈ H ₁₂	228,29	
Benzo(b)Fluoranteno	C ₂₀ H ₁₂	252,31	
Benzo(k)fluoranteno	C ₂₀ H ₁₂	252,31	
Benzo(a)pireno	C ₂₀ H ₁₂	252,30	

Fonte: Sigma Aldrich (2017).

Devido a toxicidade de alguns dos HPAs, o Ministério da Saúde através da portaria número 518 de 2004, estabeleceu alguns procedimentos e responsabilidades a serem observados em território nacional quanto a vigilância da qualidade da água para o consumo humano. Porém, somente a presença do benzo(a)pireno é regulamentada e a concentração limite máxima permitida é de $0,7\mu\text{g/L}$ em águas de classe 3, com tratamento convencional ou avançado.

Já o Ministério do Meio Ambiente através da resolução do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) número 357 de 2005 estabeleceu concentrações de limite máximos, para diversas substâncias químicas, em diversos tipos de água, ou seja, águas com diferentes finalidades de uso. Em águas doces de classe 1, (água que pode ser utilizada para consumo humanos, após tratamento simplificado), foram estabelecidos limites máximos de $0,05\mu\text{g/L}$, como mostrado na Tabela 5.

Além das agência nacionais como CONAMA que estabelecem limites máximos de resíduos de HPAs, outras agências reguladora internacionais como a agência dos Estados Unidos, Agência de Proteção Ambiental (do inglês, *Environmental Protection Agency*, EPA), e a Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer, (do inglês, *International Agency for Research on Cancer*, IARC, 2002) também estabeleceram uma classificação de HPAs em função de sua carcinogenicidade e ocorrência, na qual 14 HPAs dos 16 estudados comumente estão listados na Tabela 4.²⁸

Tabela 4. Lista de HPAs estudados quanto a sua carcinogenicidade (IARC), carcinogenicidade e ocorrência (EPA).

HPAs	IARC	EPA
Fluoreno	3	P
Fenantreno	3	P
Antraceno	3	P
Pireno	3	P
Fluoranteno	3	P
Benzo[a]antraceno	2A	P
Criseno	3	P
Benzo[b]fluoranteno	2B	P
Benzo[k]fluoranteno	2B	P
Benzo[e]pireno	3	P
Benzo[a]pireno	2A	P
Indeno[1,2,3-c,d]pireno	2B	P
Dibenzo[a,h]antraceno	2A	P
Benzo[g,h,i]perileno	3	P

2A = Provável carcinogênico para humanos – limitada evidência em humanos e suficiente em animais (IARC); 2B = Possível carcinogênico para humanos – limitada evidência em humanos e insuficiente em animais (IARC); 3 = Não é classificado como carcinogênico para humanos (IARC); P = Prioritário para monitoramento (EPA).

Adaptado de Sisino, 2003.

A EPA também estabelece limites máximos de resíduos para alguns dos HPAs em amostras de rios²⁸. Na Tabela 5, encontram-se os nomes de alguns HPAs que têm seu limite máximo como resíduo permitido pela EPA.

Tabela 5. Lista de HPAs em que há o limite máximo como resíduos em amostras de rios, pela EPA e pelo CONAMA.

Compostos	LMR*	LMR**
Antraceno	0,1 µg L ⁻¹	0,05 µg L ⁻¹
Benzo(a)pireno	0,27 µg L ⁻¹	0,05 µg L ⁻¹
Benzo(k)fluoranteno	0,017 µg L ⁻¹	0,05 µg L ⁻¹
Benzo(a)antraceno	-	0,05 µg L ⁻¹

Adaptado de Dias, A. 2015.

LMR* - EPA

LMR** CONAMA

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

O presente trabalho tem como objetivo geral propor um método para determinar hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em matrizes aquosas através da técnica de microextração em fase sólida (SPME) utilizando o biosorvente terra diatomácea para a extração de HPAs.

3.2 Objetivos Específicos

- Produzir Fibras de SPME com terra diatomácea reciclada por método de adesão de recobrimento empregando liga de NiTi (nitinol) como suporte;
- Otimizar as condições de extração por SPME para HPAs em matrizes aquosas por GC-MS, afim de obter superfícies de resposta que indiquem as melhores condições de trabalho;
- Comparar a eficiência de extração das fibras de diatomácea e fibras comerciais;
- Determinar alguns parâmetros analíticos de mérito.
- Aplicar o método desenvolvido em análises de HPAs em amostras de água de rio.

4. METODOLOGIA

4.1 Reagentes e Materiais

Uma solução padrão com concentração de 1000 $\mu\text{g L}^{-1}$ contendo acenaftileno, fluoreno, fenantreno, antraceno, benzo(a)antraceno, benzo(a)pireno, benzo(b)fluoranteno, benzo(k)fluoranteno, criseno, pireno, em metanol foi obtida da SUPELCO (Bellefonte, EUA). A partir da solução padrão, foram preparadas soluções estoque de 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ as quais foram usadas para fortificação das amostras aquosas nos experimentos de otimização e validação do método. A água utilizada para a otimização foi purificada pelo sistema de água ultra-pura (MegaPurity, Billerica, EUA). A força iônica foi estudada com a adição de cloreto de sódio (VETEC, Rio de Janeiro, Brasil). A eficiência de extração da fibra de diatomácea foi comparada com as fibras comerciais PDMS (100 μm), DVB/Car/PDMS (50/30 μm) e PDMS/DVB (65 μm) (Supelco, Bellefonte, EUA). No preparo das fibras de diatomácea foram utilizadas cola epoxi araldite (Brascola, São Bernardo do Campo, Brasil), lixa a prova d'água n°15 (Carborundum, Rio de Janeiro, Brasil) e uma peneira com granulometria de 200 mesh. Nas extrações foram utilizados fracos com volume de 40 mililitros (Supelco, Bellefonte, EUA).

4.1.2 Instrumentação

Dois cromatógrafos a gás foram utilizados nesse trabalho. Para o trabalho inicial de condicionamento da fibra e reprodutibilidade entre as fibras produzidas foi usado um cromatógrafo a gás FID (Agilent Technologies, 7820A, GC system) equipado com uma coluna composta por 95% DMS e 5% Fenil (DB-5) de 30 metros de comprimento, 0,25 mm de diâmetro e 0,25 μm de espessura de filme, fabricado por Restek (Benner Circle, Bellefonte, PA, EUA) e modo de injeção *splitless*. Como gás de arraste, foi utilizado H₂ ultrapuro, numa vazão de 1ml/min para o condicionamento das fibras de terra diatomácea e para a reprodutibilidade entre as fibras produzidas.

Para a comparação entre e as fibras comerciais e a fibra produzida, assim como a otimização de extração e parâmetros de mérito foi utilizado um cromatógrafo a gás Shimadzu (GCMS-QP2010 Plus) equipado com uma coluna Rtx-5MS (30 m de comprimento x 0,25 mm diâmetro x 0,25 μm de espessura) fabricado por Restek (Benner Circle,

Bellefonte, PA, EUA) e modo de injeção *splitless*. O espectrômetro de massas foi operado em modo de impacto de íons, a 70 eV. A temperatura de fonte de ionização foi de 230°C e a temperatura de interface em 260°C, utilizando o modo de aquisição de dados *SIM*, monitoramento seletivo de íons. As razões massas cargas estudadas estão representadas na Tabela 6. A programação de temperatura no forno cromatográfico foi a mesma para os dois equipamentos, sendo: 80 °C (1 min) seguido por 6 °C min⁻¹ até 300°C (10 min). A temperatura do injetor para ambos os cromatógrafos foi de 240°C, e a dessorção térmica da fibra foi fixada em 15 minutos, sendo esse tempo otimizado pelo grupo CroMaas²⁹.

Tabela 6. Razões massa cargas estudadas.

Compostos	m/z
Acenaftileno	152
Fluoreno	166
Fenantreno	178
Antraceno	178
Pireno	202
Benzo(a)antraceno	228
Criseno	228
Benzo(b)fluoranteno	252
Benzo(k)Fluoranteno	252
Benzo(a)pireno	252

Fonte: Autoria própria

A morfologia da fibra de terra diatomácea reciclada foi avaliada através de microscopia de varredura eletrônica com microscópio Hitachi TM 3030 (Tarrytown, NY, EUA). A caracterização da fibra de terra diatomácea reciclada foi realizada utilizando um infravermelho com transformada de *Fourier*, ABB FTLA 2000 (FTIR) (Zourique, Suíça), os espectros de infravermelho foram gerados a partir de pastilhas de KBr. Para a análise termogravimétrica da terra diatomácea reciclada, foi utilizado 30mg de pó de terra diatomácea previamente tratada, utilizando o TGA-50 da Shimadzu (Tóquio, Japão).

4.1.3 Preparo da Fibra de Terra Diatomácea

O pó de terra diatomácea é proveniente do reservatório de descarte de uma indústria cervejeira, no qual utilizam a terra diatomácea para filtração e clarificação da cerveja. Como a terra diatomácea é um mineral muito poroso, ocorre a saturação com matérias orgânicas provenientes do tratamento da cerveja. Sendo assim, a diatomácea utilizada foi tratada termicamente, primeiramente para a eliminação de resíduos líquidos provenientes da filtração e clarificação da cerveja, e, por conseguinte para eliminar toda a matéria orgânica que possa ter ficado aderido ao material, sendo esse tratamento reportado na literatura²¹.

Para a produção da fibra de SPME foi utilizado um suporte de fio de nitinol, (NiTi) de 0,2 mm e aproximadamente 1 cm de comprimento, sendo passado uma camada de cola epóxi sobre o fio de NITI para a imobilização da terra diatomácea reciclada. A fibra contendo o biossorvente imobilizado foi levado até o bloco de aquecimento a 180°C por 90 min. Passado esse tempo, as fibras de diatomácea reciclada foram condicionadas a 240°C por 90 min no injetor do GC. Conforme representada na figura 7. O tempo de vida útil da fibra foi verificado durante o estudo através da comparação das respostas das áreas cromatográficas dos analitos na condição ótima de extração na concentração de 5 µg L⁻¹.

Figura 5. Etapas de produção da fibra de diatomácea. Adaptado de Dias, A. 2015



4.1.4 Otimização do procedimento DI-SPME para determinação de HPAs em amostras de água

A otimização dos parâmetros para a extração de HPAs por DI-SPME foi realizada por planejamento composto central, à uma concentração de $5 \mu\text{g L}^{-1}$ em água ultra-pura. As variáveis de extração otimizadas foram temperatura ($10\text{-}80^\circ\text{C}$), tempo de extração ($18\text{-}102$ min), e força iônica ($0 - 10\%$), maiores valores não foram testados para não trabalhar no limite de solubilidade do NaCl, que é de 35 mg/L . A força iônica foi analisada univariavelmente. O planejamento composto central teve um total de 11 experimentos contendo uma triplicata no ponto central, sendo apresentado na tabela 7. Para a obtenção da superfície de resposta foi utilizada a média geométrica das áreas dos picos cromatográficos obtidas em cada extração utilizando o software Statistica 8.0, Statsoft, EUA.

Tabela 7. Planejamento composto central empregado para otimização da extração de HPAs em amostras de água por DI-SPME com fibra de terra diatomácea reciclada.

Experimento	Tempo (min)	Temperatura ($^\circ\text{C}$)
1	90	20
2	18	45
3 (Ponto central)	60	45
4	90	70
5	30	70
6	30	20
7	60	80
8 (Ponto central)	60	45
9	102	45
10	60	10
11 (Ponto central)	60	45

4.1.5 Preparo de amostra em água ultrapura nas condições otimizadas

Para a realização das extrações em DI-SPME com a fibra de diatomácea foram utilizados 25 mL de água ultra-pura fortificada com

os analitos em frascos de 40 mL, sendo esses frascos devidamente selados, com tempo de pré-equilíbrio de 5 min. A fibra foi imersa na amostra por 70 min a 80°C. Após o período de extração, a fibra foi retirada do frasco e inserida imediatamente ao injetor do GC-MS para dessorção dos analitos a 240 °C por 15 minutos, sendo esse valor já otimizado em outros trabalhos realizados pelo grupo CroMaas⁸.

4.1.6 Amostra

O método desenvolvido foi aplicado em 3 amostras de água de rio coletadas nos municípios de Navegantes no rio Itajaí Açu e na Baía de São Francisco, São Francisco do Sul, Santa Catarina, Brasil. As amostras foram armazenadas em frascos de vidro âmbar, devidamente selados, sob refrigeração à uma temperatura de 4 °C. Na Tabela 8 estão as coordenadas em UTM dos locais das amostras coletadas, e nas Figuras 6 e 7 estão as indicações dos locais onde foram coletadas as amostras.

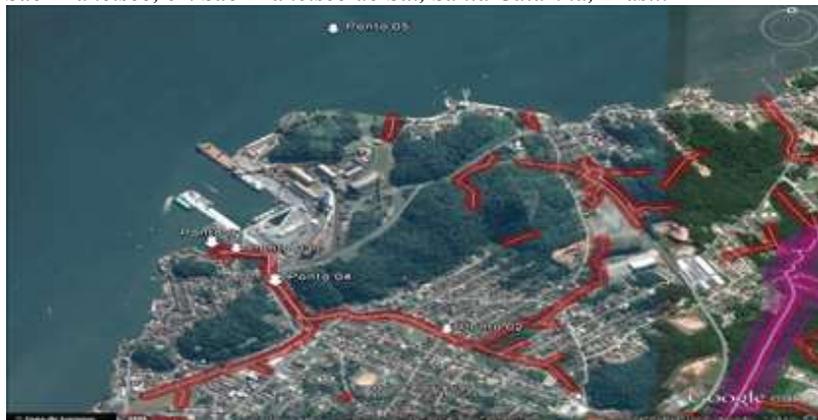
Tabela 8. Coordenadas dos locais das amostras coletadas nos municípios de Navegantes e São Francisco do Sul - Santa Catarina, Brasil.

Município	Coordenadas (UTM)
Navegantes	221731361 - 7024578
	221732147 - 7022550
São Francisco do Sul	221736446 – 7097179

Figura 6. Mapa indicando as localizações de coletas de amostras no rio Itajaí Açu, Navegantes, Santa Catarina, Brasil.



Figura 7. Mapa indicando as localizações de coletas de amostras na Baía de São Francisco, em São Francisco do Sul, Santa Catarina, Brasil.



4.1.7 Comparação da Fibra diatomácea com fibras comerciais

A eficiência de extração da fibra de diatomácea reciclada foi comparada com as fibras comerciais, utilizando as mesmas condições otimizadas nesse estudo para essa comparação. Sendo o método de extração por DI-SPME, a 80 °C e 70 min, utilizando HPAs na concentração de 5,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ em amostras de água ultra-pura. As fibras comerciais utilizadas para a comparação foram: PDMS (100 μm), e PDMS/DVB (65 μm).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

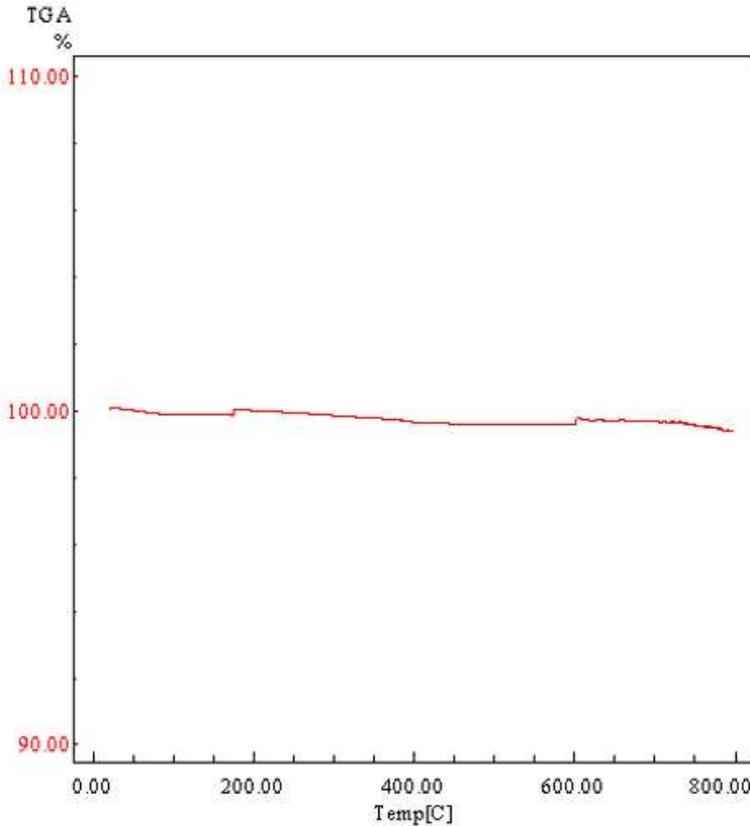
5.1 Caracterização da fibra diatomácea

De acordo com Goulart, *et al.*, o material de diatomácea coletado foi usado no processo de clarificação e filtração de cerveja no reservatório de descarte de uma indústria cervejeira. A terra diatomácea que foi cedida para esse estudo foi caracterizada, de duas formas, através de uma análise termogravimétrica (TGA) e por microscopia eletrônica de varredura (MEV).

Foram realizados dois tratamentos térmicos, o primeiro para a eliminação de resíduos líquidos provenientes da filtração e clarificação da cerveja, e o segundo tratamento térmico, para eliminar toda a matéria orgânica que pode ter ficado aderido ao material (Goulart, 2011). Um TGA foi realizado para saber a perda de massa desse material, onde a uma temperatura de 36,05 a 370,19°C houve uma perda de 3,32% proveniente da eliminação de água e produtos orgânicos de baixa massa molecular e em 409 a 660°C houve uma perda de 2,68% de massa relacionado a eliminação de matéria orgânica mais densa. (Goulart, 2011).

Após receber a amostra já tratada termicamente, foi realizado um segundo TGA para observar se ocorreria alguma perda de massa,. Isso porque o material tem coloração branca e quando aderido ao suporte de NiTi juntamente com a cola epóxi e levado ao bloco de aquecimento por 180 °C, o material altera sua cor para cinza escuro. A figura 8 mostra o segundo TGA realizado.

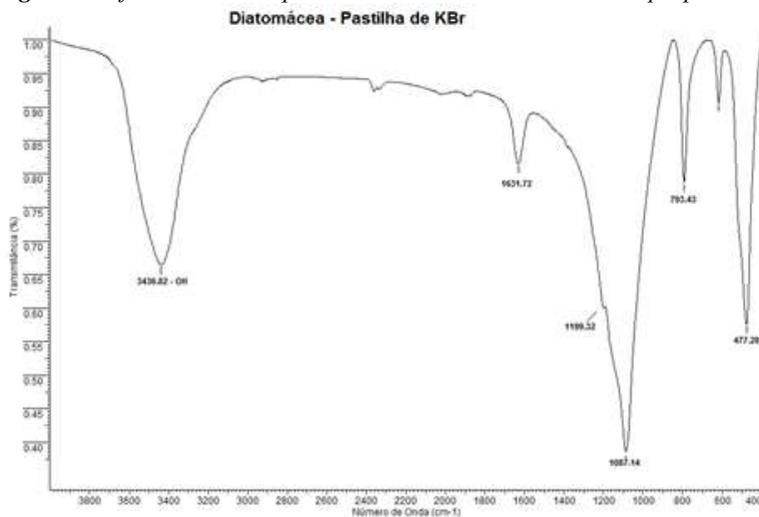
Figura 8. TGA realizado após o tratamento térmico. *Autoria própria, 2017.*



Na Figura 9, foi possível observar que após todo o tratamento térmico feito por Goulart, 2011 não havia mais degradação do material, sendo ele então um material inorgânico, poroso e de alta estabilidade térmica.

Posteriormente, após a análise por TGA, foi realizado uma análise no infravermelho, afim de atribuir grupos funcionais que estariam presentes na terra diatomácea reciclada recebida, sendo esta análise apresentada na Figura 9.

Figura 9. Infravermelho do pó da terra de diatomácea. Autoria própria, 2017.



Sabendo que a composição da terra diatomácea é de Sílica, é possível observar que em $\sim 3400\text{ cm}^{-1}$ existe uma banda larga e forte no qual é atribuído a presença de ligações O-H de grupos silanóis e também da água remanescente adsorvida. Duas bandas intensas em ~ 1200 a 1080 cm^{-1} , proveniente do estiramento assimétrico dos grupos siloxanos Si-O-Si. Em $\sim 790\text{ cm}^{-1}$ refere-se a vibrações Si-O-Si atribuídas a sílicas mesoporosas. Em $\sim 475\text{ cm}^{-1}$ uma banda relacionado a vibração O-Si-O. E por fim em $\sim 1600\text{ cm}^{-1}$ refere-se a deformação angular da molécula de água adsorvida ²⁵⁻²⁷.

Nas Figuras 10 e 11 são mostradas as micrografias obtidas a partir da fibra de diatomácea. Essas micrografias mostraram um recobrimento satisfatório no suporte de NiTi, sendo que sua morfologia apresentou uma estrutura porosa. A espessura do recobrimento de diatomácea foi avaliada pela medição do recobrimento, sendo um valor aproximado de $40,6\text{ }\mu\text{m}$.

Figura 10. Micrografia da fibra de diatomácea obtida através de microscopia de varredura eletrônica. (A) magnificação de 2000x e (B) magnificação of 4000x. Autoria própria, 2017.

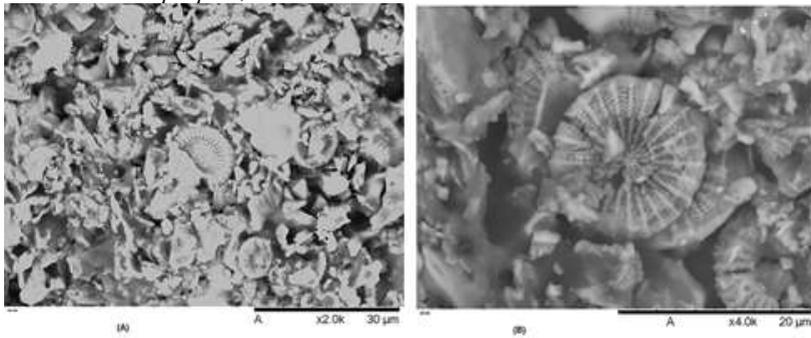
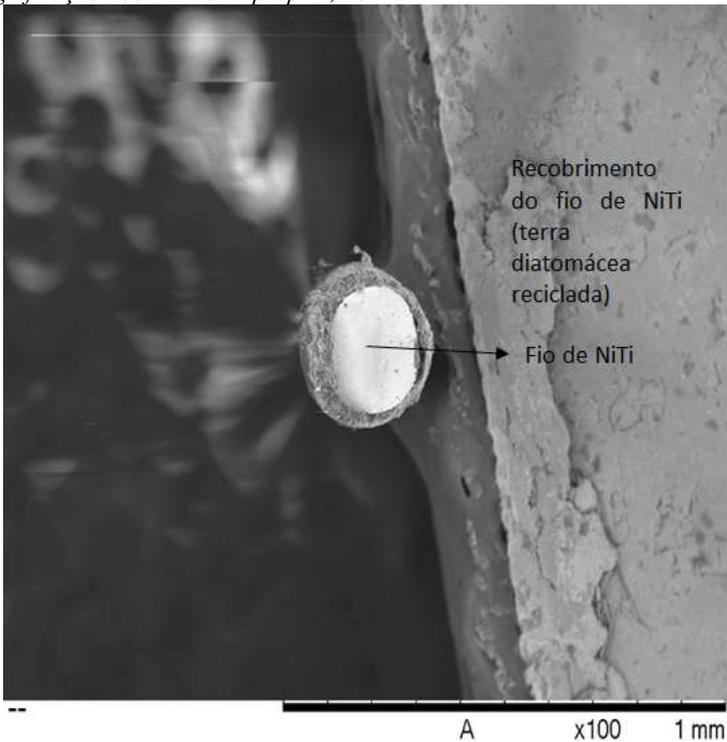


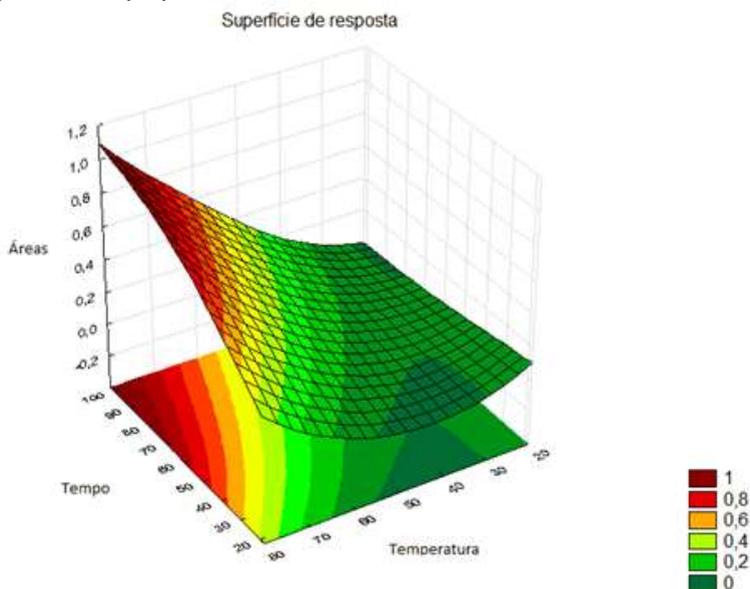
Figura 11. Espessura do recobrimento da terra diatomácea na fibra de NiTi, magnificação 100x. Autoria própria, 2017.



5.2 Otimização das condições de extração por DI-SPME

Uma das variáveis mais importantes para a SPME é o modo de extração. Nesse estudo, o modo de extração por DI-SPME foi escolhido por que a matriz de interesse não apresentava nenhum material que pudesse danificar a fibra, e porque os HPAs tem baixa volatilidade. Porém outras variáveis também são tão importantes quanto o modo de extração, como a temperatura de extração, tempo de extração e adição de sal. Inicialmente foram avaliadas as melhores condições de extração para o modo DI-SPME a partir dos dados obtidos dos cromatogramas para os analitos, onde foram construídas as superfícies de resposta, permitindo assim observar as melhores condições de extração. Os resultados obtidos pela superfície de resposta (Fig. 12) representa a condição compromisso para todos os analitos estudados.

Figura 12. Superfície de resposta obtida na extração dos HPAs por DI-SPME, tendo como parâmetros avaliados o tempo total de extração e a temperatura de extração. Autoria própria, 2017.



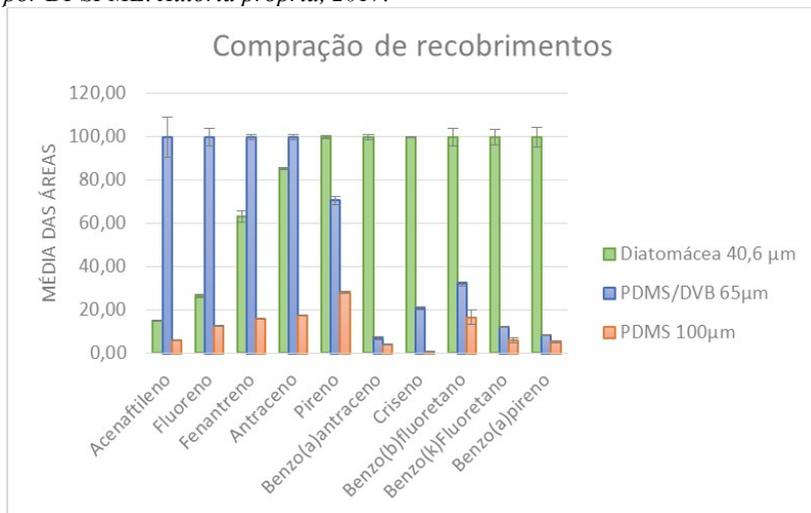
Na Figura 12 é possível observar o melhor tempo de extração em torno de 70 min e a temperatura de extração em torno de 80 °C. Acima dessa temperatura pode ocorrer a expansão do vapor de água ao

ponto de romper o lacre do frasco, e por consequência perder toda a análise. Foram estudadas a adição de sal (NaCl) para esses compostos (efeito “*salting out*”), para promover a imiscibilidade dos analitos de interesse presentes nas amostras de água de rio, neste caso, HPAs, afim de aumentar a eficiência de extração facilitando a migração do analito presente na amostra para o sorvente. Porém ao adicionar a menor quantidade de sal a partir da segunda extração a fibra de diatomácea saturava com a quantidade de sal adicionado na amostra danificando a fibra, várias tentativas foram feitas a fim de superar essa dificuldade, como por exemplo, utilizar uma mínima quantidade de NaCl na amostra, ou mergulhar a fibra em água ultrapura para retirar o excesso de sal presente na fibra, porém todas as tentativas não foram eficientes - optando por não utilizar NaCl na amostra. Sendo assim, a condição ótima para a extração desses analitos é de 80 °C, 70 min de extração e sem adição de NaCl.

5.3 Comparação da fibra de diatomácea com fibras comerciais

Como mencionado anteriormente, há diversos tipos de recobrimentos disponíveis comercialmente, no qual podem ser usados para diversos tipos de analitos, sendo eles mais voláteis ou menos voláteis, mais polares ou menos polares. Esses recobrimentos podem extrair os compostos por adsorção ou absorção, fibras de PDMS extraem os compostos por absorção, enquanto que recobrimentos como PDMS/DVB extraem por adsorção. Neste estudo a fibra de diatomácea extrai os HPAs por adsorção, devido a sua morfologia sólida e porosa. Sendo assim, a fibra de diatomácea foi comparada com duas outras fibras comerciais, a PDMS 100 µm e a PDMS/DVB 65 µm (Figura 13).

Figura 13. Comparação das respostas obtidas pela fibra de diatomácea, PDMS/DVB e PDMS para a determinação de HPAs em água de rio enriquecida por DI-SPME. Autoria própria, 2017.



A fibra de diatomácea mostrou eficiência maior ou similar as fibras comerciais, como PDMS/DVB e PDMS. É possível observar que para os compostos acenaftileno e fluoreno, o recobrimento PDMS/DVB apresentou uma melhor eficiência de extração. Para os compostos, fenantreno, antraceno e pireno a eficiência de extração com a fibra de diatomácea reciclada tornou-se similar, e a partir do do benzo(a)antraceno, a fibra de diatomácea mostrou uma eficiência de extração superior a PDMS/DVB. Já com o recobrimento PDMS, sendo esta fibra a mais utilizada para a extração de compostos como HPAs, a fibra de diatomácea mostrou uma eficiência de extração superior quando comparada a fibra comercial PDMS.

5.4 Figuras de mérito e aplicação do método

A avaliação da eficiência de extração com a fibra de diatomácea reciclada foi aplicada na determinação de HPAs em amostras de água do rio Itajaí e da Baía de São Francisco do Sul/SC, utilizando as principais figuras de mérito, onde os resultados são mostrados na tabela 9. Para os cálculos de LOD e LOQ, foi empregado as faixas lineares de 0,5 a 25 $\mu\text{g. L}^{-1}$, em 6 níveis de concentração, onde os limites de quantificação e detecção foram calculados através do programa *ORIGIN* onde:

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

$$\text{LOQ} = \frac{10 \times \text{desvio do intercepto}}{\text{inclinação da curva de calibração}}$$

Se observamos na tabela 5 onde são listados os HPAs em que há o limite máximo de resíduos em amostras de rios, pelo CONAMA e pela EPA, vemos que para os compostos citados os valores de LOD foram insatisfatórios.

Tabela 9. Faixa linear, limite de detecção e quantificação e coeficiente de correlação obtido para o método proposto utilizando como fibra a terra diatomácea para a determinação de HPAs em amostras de água de rio.

Compostos	LOD ($\mu\text{g. L}^{-1}$)	LOQ ($\mu\text{g. L}^{-1}$)	LMR* ($\mu\text{g. L}^{-1}$)	Faixa linear ($\mu\text{g. L}^{-1}$)	Curva Analítica	r
Acenaftileno	0,16	0,49		0,5 - 25	$y = 66956x - 30445$	0,9890
Fluoreno	0,17	0,50		0,5 - 25	$y = 87809x - 54517$	0,9911
Fenantreno	0,14	0,42		0,5 - 25	$y = 326565x - 245240$	0,9777
Antraceno	0,11	0,33	0,05 ^a 0,100 ^b	0,5 - 25	$y = 364057x - 339574$	0,9598
Pireno	0,24	0,73		0,5 - 25	$y = 979497x - 935649$	0,9914
Benzo(a)antraceno	0,03	0,10	0,05 ^a	0,5 - 25	$y = 506040x - 544597$	0,9832
Criseno	0,14	0,42		0,5 - 25	$y = 691902x - 796526$	0,9592
Benzo(b)fluoranteno	0,06	0,17	0,05 ^a	0,5 - 25	$y = 158587x - 50481$	0,9990
Benzo(k)Fluoranteno	0,11	0,33	0,017 ^b	0,5 - 25	$y = 431634x - 806517$	0,9848
Benzo(a)pireno	0,15	0,46	0,05 ^a 0,270 ^b	0,5 - 25	$y = 295450x - 567387$	0,9667

Condições de DI-SPME otimizadas: tempo de extração 70 min, temperatura de 80°C, 0g de NaCl, todas as amostras realizadas em triplicata, em 6 níveis de concentração.

^a LMR de acordo com o CONAMA.

^b LMR de acordo com a EPA.

Os compostos estudados apresentaram resultados de precisão intraday e interday menores que 25%, onde para os ensaios de precisão intraday, a precisão intermediária para as análises realizadas no mesmo dia foi de $\leq 15\%$ e para os ensaios de precisão interday, com intervalo de 7 dias, foi de $\leq 17\%$. A Tabela 10 apresenta os resultados de repetibilidade (intraday) e da precisão intermediária (interday), sendo a concentração utilizada de $0,5 \mu\text{g/L}^{-1}$. O método proposto foi aplicado em amostras do rio Itajaí, no qual algumas das concentrações encontradas ficaram entre os valores de LOQ e LOD.

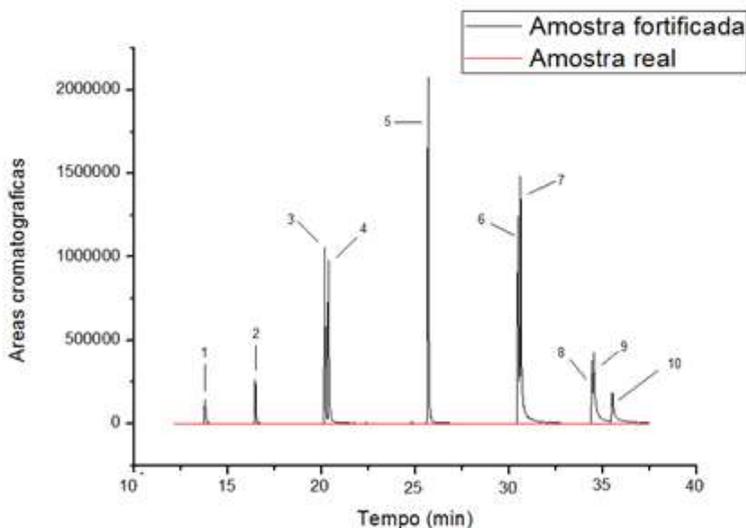
Tabela 10. Concentração na amostra do rio Itajaí, com as precisões intraday e interday (RSD, %) utilizando o método proposto. ND (não detectado) e DE (detectado)

Compostos	Concentração na amostra de água do rio	Nível fortificado ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Repetibilidade (intraday)	Precisão intermediária (interday)
			RSD (%)	RSD (%)
Acenaftileno	ND	0,5	5	10
Fluoreno	ND	0,5	15	10
Fenantreno	ND	0,5	10	13
Antraceno	ND	0,5	13	3
Pireno	DE	0,5	2	6
Benzo(a) antraceno	ND	0,5	2	6
Criseno	DE	0,5	2	6
Benzo(b) fluoranteno	ND	0,5	15	17
Benzo(k) Fluoranteno	ND	0,5	15	17
Benzo(a) pireno	DE	0,5	7	17

Condições de DI-SPME otimizadas: tempo de extração 70 min, temperatura de 80°C , 0g de NaCl, todas as amostras realizadas em triplicata.

Na Figura 14 está representado os cromatogramas dos HPAs extraídos em amostras de água de rio, fortificada em $10 \mu\text{g L}^{-1}$, após a extração por DI-SPME com a fibra de terra diatomácea. Na tabela 10 está especificado os tempos de retenção para cada analito extraído.

Figura 14. Cromatograma obtido após a extração por DI-SPME em amostra de água do rio Itajai/SC fortificada com $10 \mu\text{g.L}^{-1}$. **Analitos:** 1 – Acenaftileno ($t_R= 13,5$ min), 2 – Fluoreno ($t_R= 17$ min), 3 – Fenantreno ($t_R= 20,5$ min), 4 – Antraceno ($t_R= 20,7$ min), 5 – Pireno ($t_R= 25,8$ min), 6 - Benzo(a)antraceno ($t_R= 30,9$ min) , 7 – Criseno ($t_R= 31$ min), 8 - Benzo(b)fluoranteno ($t_R= 34,8$ min), 9 - Benzo(k)fluoranteno ($t_R= 34,2$ min), 10 - Benzo(a)pireno ($t_R= 36$ min)



5.5 Comparação na eficiência de extração para avaliação da reprodutibilidade e repetibilidade das fibras de diatomácea recicladas.

Através das análises das áreas dos picos cromatográficos normalizados, é possível comparar a eficiência de extração da fibra de diatomácea reciclada. Para a comparação foi construído um gráfico de barras no qual os resultados da reprodutibilidade ($n=2$) e repetibilidade ($n=3$) da(s) fibra(s) está representado pelas figuras 15 e 16, para a repetibilidade, foi analisado a primeira extração de HPAs em triplicata. Os resultados obtidos são apresentados na Tabela 11. Todas as análises,

foram realizadas a 80°C, com 70 min de extração, sem adição de sal e na concentração de 5µg.L⁻¹.

Figura 15. Gráfico de barras referente a reprodutibilidade da fibra de terra diatomácea reciclada (fibras 1 e 2) com as respostas obtidas após a extração por DI-SPME e determinação por GC-MS.

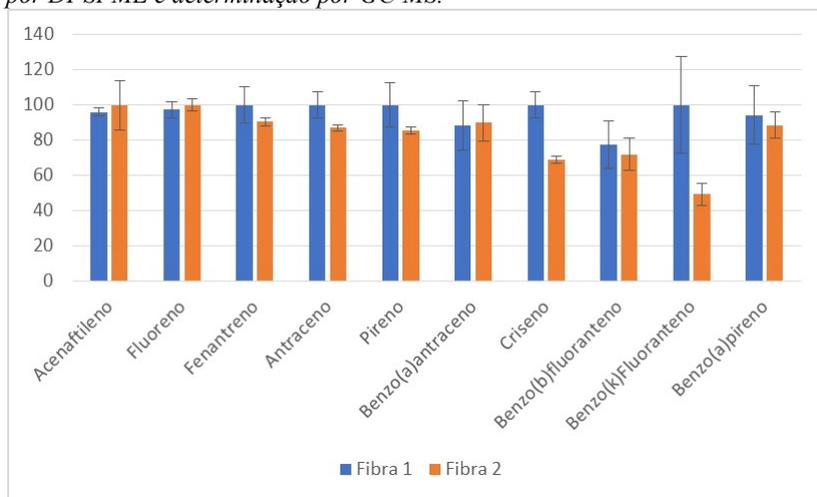


Figura 16. Gráfico de barras referente a repetibilidade da fibra de terra diatomácea reciclada (fibra 2) com as respostas obtidas após a primeira extração em triplicata, por DI-SPME e determinação por GC-MS.

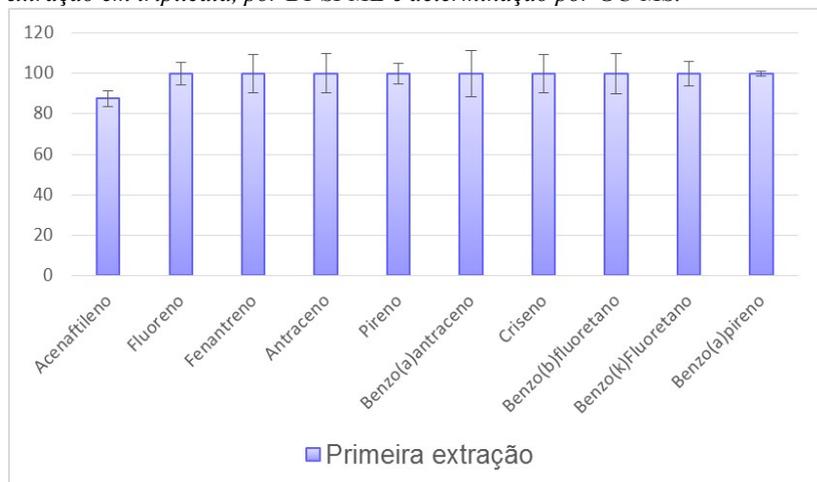


Tabela 11. Precisão intermediária referente a reprodutibilidade entre as fibras 1 e 2 com terra diatomácea reciclada.

Compostos	Concentração ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	Fibra 1 (% RSD)	Fibra 2 (% RSD)	Repetibilidade
				fibra 1 (% RSD)
Acenaftileno	0,5	13	14	4
Fluoreno	0,5	5	5	5
Fenantreno	0,5	10	9	9
Antraceno	0,5	8	7	9
Pireno	0,5	12	11	5
Benzo(a) antraceno	0,5	14	13	9
Criseno	0,5	6	7	6
Benzo(b) fluoranteno	0,5	13	10	8
Benzo(k) Fluoranteno	0,5	24	13	5
Benzo(a) pireno	0,5	17	15	1

Através dos resultados obtidos é possível observar que para a reprodutibilidade entre fibras 1 e 2 os RSD foram para fibra 1 $\geq 24\%$ e para fibra 2 foi $\geq 15\%$, quanto a repetibilidade da fibra 1 de terra diatomácea reciclada foi $\geq 9\%$, constatando uma boa confiabilidade, sendo uma ótima alternativa para o uso dessa fibra como um novo sorvente para SPME.

5.6 Compração de estudos descritos na literatura

Na tabela 12, a faixa linear do método proposto com a fibra terra diatomácea recilada é comparada com faixas lineares dos artigos publicados na literatura, onde é possível observar que os resultados encontrados são similares que os dados da literatura.

Tabela 12. Comparação entre estudos descritos na literatura e o método proposto empregando fibra de terra diatomácea reciclada na determinação de HPAs em amostras aquosas.

Trabalho	Técnica de preparo de amostra	Condições de extração	Faixa linear em $\mu\text{g.L}^{-1}$
Este trabalho	SPME com fibra de terra de diatomácea reciclada de 45,6 μm	Modo de extração DI, 25 ml de amostra, tempo de extração de 70 min, temperatura de 80 °C, sem adição de sal e agitação magnética de 1000 rpm.	0,5 - 25
RIANAWATI, E. et al., 2009	SPME com fibra de PDMS, espessura de 100 μm	20 μL do composto foram adicionados a em frascos de 10 ml de amostra, monocloroacetato de sódio como sal, 0,5 M. ado HCl e NaOH para manter o pH em 7. Agitação magnética de 760 rpm. 60 min de tempo de extração	1 - 80
PSILLAKIS et al., 2003	SPME com fibra de PDMS (100 μm de espessura)	Modo de extração DI, 5 mL de amostra, tempo de extração de 60 min, temperatura ambiente, adição de 4,7 % de NaCl e agitação magnética de 1000 rpm.	0,5 – 50 ^a 1 - 50 ^b 0,1 -50 ^c

^aBenzo(b)fluoranteno, benzo(k)fluoranteno e benzo(a)pireno.

^b Antraceno.

^c Demais analitos .

O método proposto foi comparado com dados da literatura, onde a faixa linear desse trabalho quando comparado com o trabalho de RIANAWATI utilizando nano tubo de carbono para a extração de HPA apresentou valores inferiores aos primeiros níveis.

Quando comparado com o trabalho de PSILLAKIS utilizando a fibra de SPME com revestimentos de PDMS, para os analitos Benzo(b)fluoranteno, benzo(k)fluoranteno e benzo(a)pireno, os valores da faixa linear utilizada neste trabalho foram iguais para os primeiros níveis, para o antraceno, os valores da faixa linear utilizada neste trabalho foi inferior e para os demais analitos estudados, a faixa linear utilizada para este trabalho foi superior, porém para a faixa linear de $0,1 \mu\text{g.L}^{-1}$, a adição de sal ajudou no efeito salting out dos compostos mais pesados, o que não foi possível utilizar nesse trabalho.

6. CONCLUSÃO

Nesse estudo foram produzidas fibras de terra diatomácea reciclada pelo método de adesão de recobrimento empregando liga de NiTi como suporte, onde a fase extratora foi avaliada através da extração de HPAs primeiramente em água ultra pura afim de otimizar as condições de extração por SPME em GC-MS e GC-FID e então comparar a reprodutibilidade entre as fibras produzidas, obtendo valores de RSD $\geq 24\%$.

Através da otimização utilizando o planejamento de composto central, entre tempo de extração e temperatura de extração, foi obtida uma superfície de resposta, indicando a condição compromisso de trabalho, sendo de 80°C a temperatura de extração, 70 min o tempo de extração e sem adição de sal.

A comparação entre a eficiência de extração das fibras de terra diatomácea reciclada com fibras comerciais foram realizadas, onde foi possível observar que a terra diatomácea reciclada por ser altamente porosa teve uma eficiência de extração similar e até mesmo superior as fibras comerciais.

O método proposto apresentou bons resultados quanto a repetibilidade intraday e precisão intermediária interday (7 dias de intervalo), apresentando RSD $\geq 15\%$ e 17% respectivamente, em amostras de água de rio.

Sendo assim, através dos resultados obtidos, é possível chegar à conclusão de que a terra diatomácea por ser uma matéria prima barata, de fácil preparação e se mostra um biossorvente atrativo quando comparado com as fases extratoras comerciais de SPME.

7. REFERÊNCIAS

- [1] BACCI, D. C., PATACA, E, M. Educação para água, **SciELO, Estudos Avançados**, n. 22, v. 63, p. 211-226, 2008.
- [2] LIMA, J.A., DAMBROS, M. V. R., et al., Potencial da economia de água potável pelo uso de água pluvial: análise de 40 cidades da Amazônia. **Eng Sanit Ambient**, v.16, n.3, p. 291-298, 2011.
- [3] MERTEN, G. H.; MINELLA, J. P. Qualidade da água em bacias hidrográficas rurais: um desafio atual para a sobrevivência futura. **Agroecol. E Desenvol. Rur. Sustent. Porto Alegre**. v. 3, n. 4, p. 33-38, 2002.
- [4] HELENO, F. F. Desenvolvimento, otimização e validação de metodologias analíticas (HS-GC-FID, HS-GC-MS E HS-SPME-GC-MS) para determinação de BTEX em matrizes aquosas ambientais. 2009. 109f. **Dissertação** (Mestrado em Engenharia Ambiental). UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO, 2009.
- [5] MERIB, J.; CARASEK, E. Microextração em fase líquida, suportada com fibra oca (HF-LPME) Fundamentos e aplicações recentes. **Scientia Chromatographica**, v. 5, n. 4, p. 1-13, 2013.
- [6] CALDAS, S. S., GONÇALVES, F. F. et al., Principais técnicas de preparo de amostra para a determinação de resíduos de agrotóxicos em água por cromatografia líquida com detecção por arranjo de diodos e por espectrometria de massas, **Quim. Nova**, v. 34, n. 9, p. 1604-1617, 2011
- [7] MORAIS, E. H. C., BEGNINI, F. R., et al., Técnicas de preparo de amostra empregadas na determinação de agrotóxicos carbamatos em água e solo, **Scientia Chromatographica**, v. 5, n. 2, p. 146-162, 2013.
- [8] DIAS, A. N.; SIMÃO, V.; MERIB, J. ; CARASEK, E. Cork as a new (green) coating for solid-phase microextraction: Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in water samples by gas chromatography–mass spectrometry, **Analytica Chimica Acta**, v. 772, p. 33-39, 2013

[9] BIACHE, C.; MANSUY-HUAULT L.; FAURE, P. Impact of oxidation and biodegradation on the most commonly used polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) diagnostic ratios: Implication of the source identifications, **Journal of Hazardous Materials**, v. 267, p. 31-39, 2014.

[10] ORLANDO, R.M., CORDEIRO, D.D., MATHIAS, A.E.B., REZENDE, K.R., GIL, E.S., Pré-tratamento de amostras, **Vita et Sanitas**, Trindade-Goiás, n. 3, p. 122-139, 2009.

[11] OLIVEIRA, A. R. M.; MAGALHÃES, I. R. S.; SANTANA, F. J. M.; BONATO, P. S. Microextração em fase líquida (lpme): fundamentos da técnica e aplicações na análise de fármacos em fluidos biológicos. *Quim. Nova*. v. 31, n. 3, p. 637-644, 2008.

[12] DIONÍSIO, A. G. G.; BASTITÃO, M. B.; SANTOS, V. B.; ICERI, T. M.; CASSIANO, N. M.; CASS, Q. B. Novas Tendências em Preparo de Amostras para Cromatografia Líquida. *Scientia Chromatographica*. v. 2, n. 3, p. 19-29, 2010.

[13] MARTENDAL, E. Metodologias analíticas baseadas em microextração em fase sólida com recobrimento internamente refrigerado, 2010. 43f. **Tese** (Doutorado em Química). DEPARTAMENTO DE QUÍMICA, UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA, 2010.

[14] PAWLISZYN J. **Handbook of Solid Phase Microextraction**, Beijing: Chemical Industry Press, 2009.

[15] TSAO, Y-U., WANG, Y-C., WU, S-F., DING, W-H., Microwave-assisted headspace solid-phase microextraction for the rapid determination of organophosphate esters in aqueous samples by gas chromatography-mass spectrometry, **Talanta**, v. 84, p. 406-410, 2011.

[16] DONG, C., ZENG, Z., YANG, M., Determination of organochlorine pesticides and their derivations in water after HS-SPME using polymethylphenylvinylsiloxane-coated fiber by GC-ECD, **Water Research**, v. 39, p. 4204-4210, 2005.

- [17] MERIB, J., SIMÃO, V., DIAS, A.N., CARASEK, E., Simultaneous determination of trihalomethanes and organochlorine pesticides in water samples by direct-immersion-headspace-solid phase microextraction. **Journal of Chromatography A**, v. 1321, p. 30-37, 2013.
- [20] BARBIERI, A., DEMAMAN, I., et al., Terra de diatomáceas como alternativa no controle de pragas de milho armazenado em propriedade familiar, **Groecol.e Desenv.Rur.Sustent.**, Porto Alegre, v.2, n.4, 2001
- [21] SOUZA, G. P., FILGUEIRA, M., et al., Caracterização de material compósito diatomáceo natural, **CERÂMICA**, v. 49, p. 40-43, 2003.
- [22] SILVEIRA, C., B., GOULART, M. R., et al., Metodologias para reutilização do resíduo de terra diatomácea, proveniente da filtração e clarificação da cerveja, **Quim. Nova**, v. 34, n. 4, p. 625-629, 2011
- [23] BEZERRA, M., A. et al. Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry. **Talanta**, v. 76, p. 965-977, 2008.
- [24] ARAUJO, P. W., BRERETON, R. G. Experimental design II Optimization. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 15, p. 63, 1996.
- [25] OLIVEIRA, T. G., MACHADO, S. W. M., *et al.*, Adsorção de CO_2 em peneiras moleculares micro e mesoporosas, **Quim. Nova**, v. 37, n. 4, 610-617, 2014.
- [26] SALES, J. A. A., PRADO, A. G. S., AIROLDI, C., The incorporation of propane-1,3-diamine into silylant epoxide group through homogeneous and heterogeneous routes, **Polyhedron**, v.21, p. 2647-2651, 2002.
- [27] MAGOSSO, M. S., CARMO, D. R., síntese e caracterização da sílica gel organofuncionalizada com 4-AMINO-5-(4-PIRIDIL) -4H-1,2,4-TRIAZOL-3-TIOL (APTT) Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciência dos Materiais, 21º CBECIMAT, 09 a 13 de Novembro de 2014, Cuiabá, MT, Brasil.

[28] SISINNO, C. L. S., PEREIRA NETTO, A. D., REGO, E. C. P., LIMA, G. S. V., Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em resíduos sólidos industriais: uma avaliação preliminar do risco potencial de contaminação ambiental e humana em áreas de disposição de resíduos, **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v.19, n. 2, p. 671-676, 2003.

[29] NEVES, D. A., cortiça: uma nova abordagem como fase extratora para microextração em fase sólida e microextração em barra adsortiva 2015. 151f. **Tese** (Doutorado em Química). DEPARTAMENTO DE QUÍMICA, UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA, 2015.

[30] MERIB, J. O., Otimização e aplicação da microextração em fase sólida com e sem refrigeração interna em amostras de ervas medicinais e água de rio, 2013. 99f. **Dissertação** (Mestrado em Química). DEPARTAMENTO DE QUÍMICA, UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA, 2013.

[31] BUDZIAK, D., Desenvolvimento e aplicação de fases extratoras para técnicas de preparação de amostras 2009. 187f. **Tese** (Doutorado em Química). DEPARTAMENTO DE QUÍMICA, UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA, 2009.

[32] Julio C.P.Vagheti, et al., Pecan nutshell as biosorbent to remove Cu(II), Mn(II) and Pb(II) from aqueous solutions, *Journal of Hazardous Materials*, v. 162, n.1, p. 270-280, 2009.

[33] Julio C.P.Vagheti, et al., Application of Brazilian-pine fruit coat as a biosorbent to removal of Cr(VI) from aqueous solution—Kinetics and equilibrium study, *Biochemical Engineering Journal*, v.42, n.1, p. 67-76, 2008.

[34] BORBA, TANIA, R., ESTUDO DA APLICAÇÃO DE BIOSSORVENTES NO TRATAMENTO DE REJEITOS RADIOATIVOS LÍQUIDOS CONTENDO AMERÍCIO-241, 2010. 79f. **Dissertação** (Mestrado em Ciência na área de Tecnologia Nuclear, Aplicações). IPEN, 2010.

[35] LIMA, C. P. I., CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DO INCREMENTO DE DIATOMITA EM UMA RESINA COMERCIAL DE USO ODONTOLÓGICO, 2005. 113f. **Tese** (Doutorado em Ciência e Engenharia de Materiais, Aplicações). DEPARTAMENTO DE CIÊNCIA EXATAS E DA TERRA, UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE, 2005.