



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

**IDENTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS VOLÁTEIS PRESENTES
EM AZEITE DE OLIVA VIA MICROEXTRAÇÃO EM FASE
SÓLIDA POR HEADSPACE (HS-SPME) E
CROMATOGRÁFIA A ACOPLADA À ESPECTROMETRIA DE
MASSAS (GC-MS)**

Lucas Soares Caetano

Florianópolis
Fevereiro/2019

Lucas Soares Caetano

**IDENTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS VOLÁTEIS PRESENTES EM
AZEITE DE OLIVA VIA MICROEXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA POR
HEADSPACE (HS-SPME) E CROMATOGRAFIA A ACOPLADA À
ESPECTROMETRIA DE MASSAS (GC-MS)**

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

Orientador: Professor Dr. Luiz Augusto do Santos Madureira

Florianópolis
Fevereiro/2019

Dedico este trabalho aos
meus filhos Pedro e Theo, a
minha esposa Manoella e aos
meus pais Adelir e Sônia por
todo amor e apoio
incondicional

Agradecimentos

Aos meus pais Adelir e Sônia que me receberam neste mundo com tanto amor.

Ao meu filho Theo que me ensina sobre as coisas mais simples da vida todos os dias.

Ao meu filho Pedro que me faz querer um amanhã melhor.

A minha esposa Manoella, muito obrigado por ser a minha base. Sempre ao meu lado para seguirmos nossos sonhos e valores. Obrigado por todo apoio. Sem você eu jamais teria concluído este trabalho.

Aos meus amigos companheiros desta jornada: Breno, Marcos, Nicolazi, Roger, Zé, Carlos, Natan, Fuck, Carol, Marina, Fernanda, Rhannanda. Saibam que muito aprendi com vocês.

Aos colegas de laboratório Ana, Leila, Karine e Gustavo por todas as horas que dedicaram para me ajudar, pela paciência e lições. Obrigado.

Ao Prof. Madureira pela orientação, ensinamentos e paciência.

Ao Professor Paulik que me inspirou a cursar Química.

A UFSC por ser pública, gratuita e de qualidade.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	8
2.1 Azeite de oliva	9
2.2 Microextração em fase sólida	9
2.3 Headspace (HS)	10
2.3.1 FIBRA EXTRATORA	11
2.4 Métodos cromatográficos	11
2.4.1 Detector por ionização em chama (FID)	12
3. OBJETIVOS	13
3.1 Objetivo Geral	13
3.2 Objetivos específicos	13
4 MATERIAL E MÉTODO	14
4.1 Amostras	14
4.2 Equipamentos	14
4.3 Limpeza dos materiais	14
4.4 Extração via SPME-HS	15
4.5 Análise e condições cromatográficas	16
4.6 Resíduos gerados	16
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	17
5.1 Cromatogramas comparativos dos óleos vegetais	17
5.2 Cromatogramas de massas comparativos dos azeites	18
6 CONCLUSÃO	22
7 REFERÊNCIAS	23

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Representação do dispositivo de SPME	10
Figura 2 Representação do cromatógrafo a gás e suas partes	12
Figura 3 Etapas de (A) Extração do analito e (B) Dessorção do analito no cromatógrafo	15
Figura 4 Cromatogramas obtidos através de GC-FID para as amostras de óleo vegetal	17
Figura 5 Cromatograma obtido através de GC-MS para a amostra A, de 5min até 12min.	19
Figura 6 Cromatograma obtido através de GC-MS para a amostra B, de 5min até 10min.	19
Figura 7 Cromatograma obtido através de GC-MS para a amostra D, de 4min até 12min	20
Figura 8 Cromatograma obtido através de GC-MS para a amostra E, de 4min até 10min.	20

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Amostras de óleo vegetal utilizadas	14
Tabela 2 Legenda dos tipos de óleos demonstrados na figura 4	17
Tabela 3 Identificação através de GC-MS	18

RESUMO

Amostras de óleos vegetais comestíveis de soja (C), milho (G), canola (F), azeite de oliva extra-virgem (E), azeite de oliva extra-virgem Premium (B), azeite de oliva misturado com óleo de soja a uma fração de 10%(v/v) de azeite (D) e azeite de oliva misturado com óleo de soja a uma fração de 33%(v/v) de azeite (A) foram analisados utilizando a técnica de microextração em fase sólida (SPME) com o uso de headspace (HS) e analisados posteriormente via cromatografia a gás com detector por ionização à chama (GC-FID), onde não houve resposta do método para as amostras C, G e F. As amostras de azeite E, B, D e A foram posteriormente analisadas em cromatógrafo a gás acoplado ao espectrômetro de massas (GC-MS) para identificação dos compostos voláteis. Foi possível a identificação de diversos compostos como por exemplo o ciclohexanol, octanal, heptanal, hexenal e (E)-2-hexenal. Estes dois últimos com abundância muito grande em todas as amostras de azeite de oliva se comparado com os demais compostos. Há uma correlação entre a quantidade de hexenal e (E)-2-hexenal, onde nas amostras A e B foram encontrados com maior abundância. Para estas amostras o método mostrou-se limitado para a identificação dos compostos voláteis presente.

Palavras-chave: azeite, spme, headspace, cromatografia

1. INTRODUÇÃO

Os óleos vegetais são amplamente utilizados na gastronomia em todo mundo, desde forma de temperos até como meio para atingir altas temperaturas proporcionando a fritura dos alimentos. A utilização de óleos vegetais em nossa alimentação é cultural e muito frequente na mesa dos brasileiros. Dos tipos mais comumente utilizados estão os óleos de soja, milho, girassol, canola e oliva. Tendo destaque importante o óleo de oliva devido ao seu sabor incomparável sendo um dos poucos óleos ingeridos cru. A maioria dos óleos é extraída por meio de solventes e devido ao seu processo de extração por prensagem o óleo de oliva recebe a denominação de azeite de oliva. Este também é um dos que tem o custo mais alto e há diversos tipos disponíveis ao consumidor, por exemplo: Virgem, extra-virgem, misto 10% de azeite de oliva e misto 33% de azeite de oliva.

O azeite de oliva, por possuir o seu valor mais elevado é comum encontrar notícias sobre adulteração nestes produtos e elas são feitas de diversas formas, desde misturar com azeites de oliva de qualidade inferior ou até mesmo outros óleos vegetais de menor valor como o de soja ou milho, por exemplo. Recentemente quase 50 marcas foram retiradas de circulação por apresentarem irregularidades.

Os azeites são misturas complexas onde cerca de 2% de sua composição é formada por esteróis, fenóis e compostos voláteis¹. Esses compostos voláteis são os principais responsáveis pelo sabor e odor característico do azeite de oliva. Os compostos de carbono formados por cinco e seis átomos de carbono em sua cadeia são os mais desejáveis de serem encontrados na composição dos voláteis no azeite de oliva e indicam uma boa qualidade do produto².

Com o uso das técnicas cromatográficas, é possível fazer a caracterização dos óleos. Como observado, por exemplo, por Flamini et.al.³, que identificaram cerca de setenta compostos que constituem as folhas, o fruto e o próprio óleo de oliva.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Azeite de oliva

Partindo da azeitona, fruto da Oliveira (*Olea europea L.*), o azeite de oliva é extraído de diversas formas. Para ser denominado azeite este não deve sofrer refino por solventes. Geralmente uma prensa mecânica é utilizada para extrair o azeite de oliva do fruto. Esta extração ocorre de forma lenta. Durante o processo de extração enzimas presentes na azeitona começam a reagir com os compostos presentes dando origem a diversos componentes responsáveis pelo sabor e aroma do azeite de oliva. Muitos fatores podem influenciar na qualidade final do azeite, dentre eles destacam-se a qualidade do fruto, o clima da região e o tipo de extração e armazenamento.

Os compostos voláteis presentes no azeite são um atrativo para a indústria; estes compostos são responsáveis por odores característicos do azeite e são adicionados em diversos produtos, até perfumaria. Dentre os compostos destaca-se o (E)-2-Hexenal que nos fornece o cheiro característico de “verde” e pode ser encontrado em diversas frutas. Porém, é muito abundante na azeitona verde. A quantidade deste composto pode indicar boa procedência do azeite. Ele é formado a partir da quebra enzimática do ômega 6⁴.

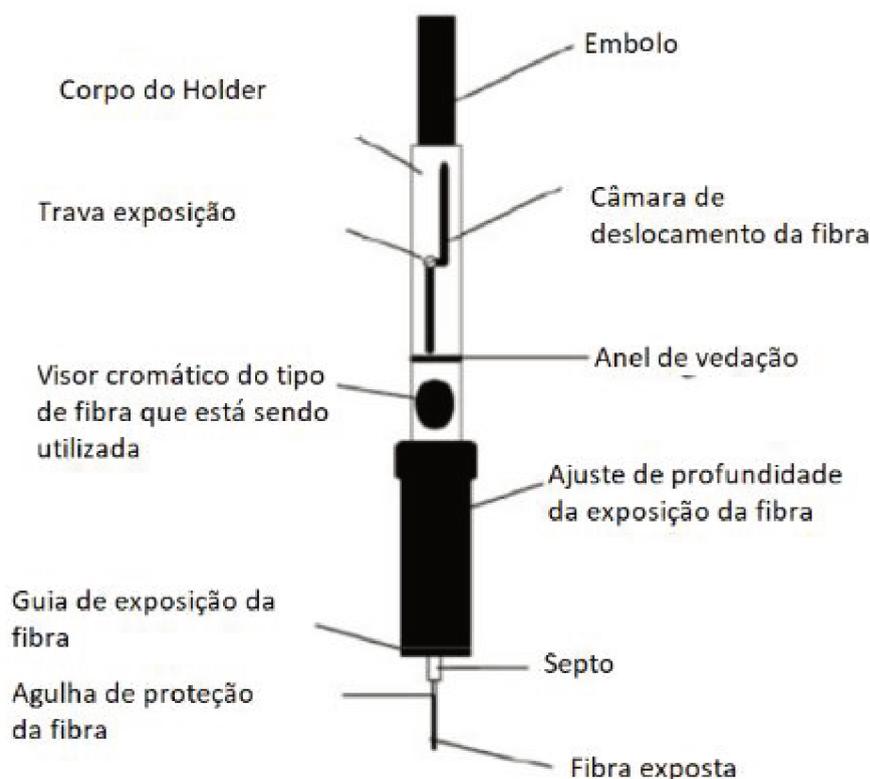
2.2 Microextração em fase sólida

Inicialmente desenvolvido na década de 1990 por Anthur e Pawliszyn⁽⁵⁾ a técnica de microextração em fase sólida (SPME) é cada vez mais utilizada em diversos tipos de análise^{6,7}. Este método de extração se destaca pelo fácil uso, baixo custo de extração por amostra e extração de quantidades mínimas de analito não interferindo significativamente na concentração total do analito na amostra, muito utilizada onde a amostra vem de uma matriz que não pode ser replicada, como em química forense por exemplo⁸.

Diferente da extração de analitos na técnica de preparo de amostras por extração líquido-líquido (LLE), a SPME não precisa utilizar solventes orgânicos que necessitam ser puros e são frequentemente tóxicos, evitando assim possíveis contaminações.

A SPME necessita de um dispositivo especial denominado Holder. Este holder infelizmente apresenta um alto custo acima de quatro mil reais. Porém, é um equipamento robusto e pode ser utilizado em um número praticamente ilimitado de análises. A estrutura do holder e a forma de utilização estão exemplificadas na figura 1.

Figura 1 Representação do dispositivo de SPME



Fonte: Researchgate, A review of; SPME fiber for analysis pesticides in fruits na vegetable. Adaptado.

2.3 Headspace (HS)

O método de extração via microextração em fase sólida com uso de headspace (HS-SPME) para compostos voláteis já é utilizado em diversos tipos de óleos vegetais como de soja, canola, girassol e milho⁹. Este tipo de extração consiste na exposição da fibra em um tubo lacrado com um septo onde a amostra foi armazenada. Neste tipo de extração não há contato direto com a amostra. Isto

permite que a fibra não seja danificada, com a adsorção de compostos que não seriam termicamente desorvidos quando a fibra fosse exposta no cromatógrafo¹⁰, ou até mesmo a perda do revestimento da fibra por conta do contato direto com solventes aumentando assim sua vida útil. O uso de HS facilita a adsorção de compostos voláteis.

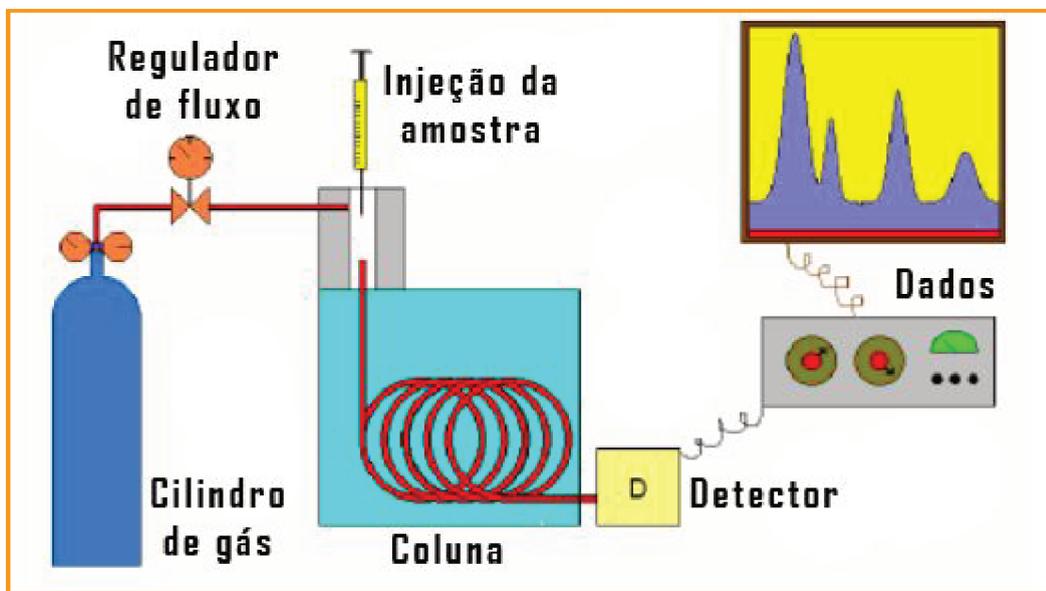
2.3.1 FIBRA EXTRATORA

A fibra consiste em um tubo feito de sílica fundida, seu revestimento pode variar e há diversos tipos de revestimentos que ainda são desenvolvidos até hoje¹¹. Os revestimentos comerciais mais comuns e disponíveis comercialmente são: polidimetilsiloxano (PDMS), divinilbenzeno DVB com PDMS e divinilbenzeno / carboxen em poli (dimetilsiloxano) (DVB / CAR / PDMS). Esta fibra tricomponente já foi testada por Henryk et.al.⁹, como sendo a mais eficiente para a extração e caracterização de compostos voláteis em óleos vegetais e, especificamente, para azeite de oliva, como relatado por Vichi et.al.¹.

2.4 Métodos cromatográficos

Amplamente utilizada para determinação dos compostos voláteis azeite de oliva^{12,13} a cromatografia a gás (GC) é uma técnica que permite separar as substâncias voláteis das amostras para posterior identificação. A amostra é injetada no cromatógrafo e então a fase móvel, constituída pelo gás de arraste, que deve ser inerte e não reagir com os analitos, leva os analitos através da coluna capilar figura 2. Através da diferença de interação da amostra pelo tubo capilar e também pelo aquecimento do mesmo os compostos se separam e chegam até o detector em tempos diferentes¹⁴.

Figura 2 Representação do cromatógrafo a gás e suas partes



Fonte: Biomedicinabrasil, outubro/2012, métodos cromatográficos. Adaptado

2.4.1 Detector por ionização em chama (FID)

O detector por ionização em chama (GC/FID) funciona com uma mistura de ar sintético e hidrogênio de alta pureza para não produzir interferências. Esta mistura é queimada e produz um sinal base. Conforme os analitos já separados previamente pela coluna chegam até a chama, há uma alteração do sinal que é quantificado pelo aparelho em voltagem. Este detector se destaca pela alta sensibilidade a moléculas orgânicas.

2.4.2 Espectrômetro de massas (MS)

O espectrômetro de massas trabalha acoplado a um cromatógrafo a gás (GC-MS) e é utilizado principalmente para a identificação dos analitos. Na câmara de ionização do MS ocorre ruptura das moléculas em fragmentos devido a um alto potencial aplicado, geralmente 70eV. Esses fragmentos são separados conforme sua razão massa/carga (m/z) e posteriormente os espectros de massas gerados são comparados a uma biblioteca disponível no software do próprio aparelho¹⁵.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Em amostras de azeite de oliva, avaliar a presença de indícios de adulteração por outros óleos vegetais e possíveis misturas com azeites de oliva de qualidade inferior.

3.2 Objetivos específicos

- Identificar biomarcadores presentes no azeite de oliva.
- Extrair os analitos das amostras utilizando HS-SPME.
- Analisar via GC/FID e GC-MS as amostras e identificar os compostos presentes no azeite de oliva, dando ênfase aos compostos hexenal e (E)-2-Hexenal.

4 MATERIAL E MÉTODO

4.1 Amostras

Foram adquiridos óleos vegetais conforme listados na tabela 1 abaixo, para cada análise foram utilizados 5 mL do óleo vegetal.

Tabela 1 Amostras de óleo vegetal utilizadas

Óleo vegetal	TIPO COMERCIAL
Oliva	Azeite de oliva extra virgem
Oliva/soja	Azeite de oliva misto 33% azeite/67% óleo de soja
Oliva/soja	Azeite de oliva misto 10% azeite/90% óleo de soja
Oliva	Azeite de oliva “gourmet”
Canola	Óleo de canola (ou colza)
Soja	Óleo de soja
Milho	Óleo de milho

4.2 Equipamentos

Durante o aquecimento foram utilizados: Agitador magnético modelo DI-03 (Dist) junto a um banho termostático modelo MQBTC (Microquímica). A mufla utilizada para calcinação da vidraria foi a Quimis Q317B243. Os cromatógrafos a gás usados foram o GC-FID da Shimadzu modelo 2014 e o GC/MS Perkin Elmer modelo 680/SQ 8s.

4.3 Limpeza dos materiais

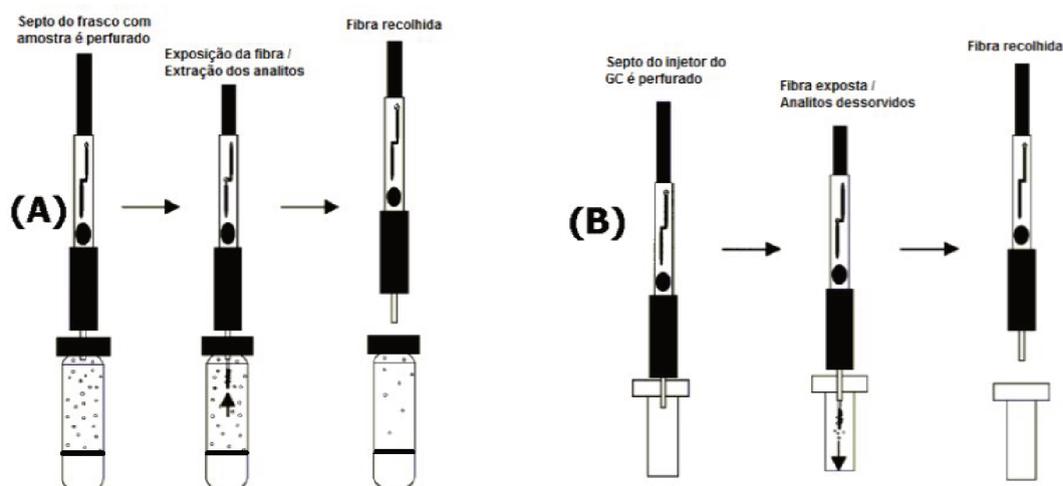
A vidraria foi previamente e posteriormente limpa com solução a 5% (v/v) de detergente Extran (Merck), como demonstrado por Jessica Alessandra et. al¹⁶. Em seguida, foram enxaguadas com água desionizada. Após secagem foram introduzidas em uma mufla com temperatura de 400°C por 4 h para calcinação. Toda a vidraria foi armazenada em recipiente fechado até o momento de sua utilização. As mesmas etapas foram adotadas para os agitadores magnéticos, exceto a calcinação em mufla.

A fibra DVB/PDMS/CARBOXEN foi limpa conforme recomendação do fabricante: 1 hora dentro do injetor do cromatógrafo a 250°C. O procedimento de análise foi reproduzido sem o analito em questão (branco) a fim de confirmar a não interferência de possíveis contaminantes no método.

4.4 Extração via SPME-HS

As amostras foram analisadas diretamente após abertura de suas embalagens originais para que não houvesse perda de analitos voláteis. Foram transferidos 5 mL de cada amostra para um tubo de 40 mL próprio para SPME no qual a tampa permite a introdução do holder. Todas amostras ficaram em agitação constante e em banho maria a 40°C por 10 min. Após isto a fibra foi exposta por 5 min, a fim de extrair os analitos. O esquema abaixo mostra as etapas de extração dos analitos da amostra. A figura 3 exemplifica a extração por HS seguida pela dessorção no cromatógrafo.

Figura 3 Etapas de (A) Extração do analito e (B) Dessorção do analito no cromatógrafo



Fonte: retirada de Repositório Unicamp.

4.5 Análise e condições cromatográficas

Após a extração dos analitos via HS-SPME a fibra foi inserida diretamente no injetor do cromatógrafo e permaneceu exposta por 15 minutos. O injetor foi mantido a 260°C e o modo de injeção foi o splitless. A pressão dentro do injetor era de 40 kPa e o gás de arraste, hidrogênio, estava com um fluxo de 52 mL/min. Após ser liberado pelo injetor os analitos vão para a coluna (30 m x 0,3 mm x 0,25 µm de fase estacionária), que estava inicialmente com a temperatura de 40°C e submetida a uma taxa de aquecimento de 4°C por min até 120°C. O FID foi regulado a uma temperatura de 300°C para garantir que todas as espécies fossem ionizadas. Os mesmos padrões foram adotados para o GC-MS, porém o gás de arraste passa a ser o He.

4.6 Resíduos gerados

Por não possuírem nenhum tipo de solvente ou qualquer outro tipo de contaminante o resíduo dos óleos utilizados foram encaminhados a um laboratório de síntese orgânica onde serão utilizados para aquecimento das reações através de banho de óleo sobre uma chapa de aquecimento

5 RESULTADOS E DISCUSÃO

5.1 Cromatogramas comparativos dos óleos vegetais

Além do azeite de oliva, a metodologia proposta foi empregada para a análise de outros tipos de óleos vegetais. A análise comparativa foi realizada por meio da visualização dos cromatogramas obtidos por GC-FID, conforme exemplificado na figura 4. Cada cromatograma representa um tipo de óleo vegetal conforme 2. Esses são os resultados obtidos a partir da extração com a fibra DVB/PDMS/CARBOXEN. Outras fibras testadas não apresentaram bons resultados, A maioria dos compostos eluíram na faixa de temperatura entre 50°C e 70°C. Pode-se observar uma grande semelhança nos perfis cromatográficos de B e E, pois são duas amostras de azeite de oliva. A amostra A apresenta um perfil diferente, pois é uma mistura comercial de azeite de oliva e óleo de soja (33:67 %, v/v).

Figura 4 Cromatogramas obtidos através de GC-FID para as amostras de óleo vegetal

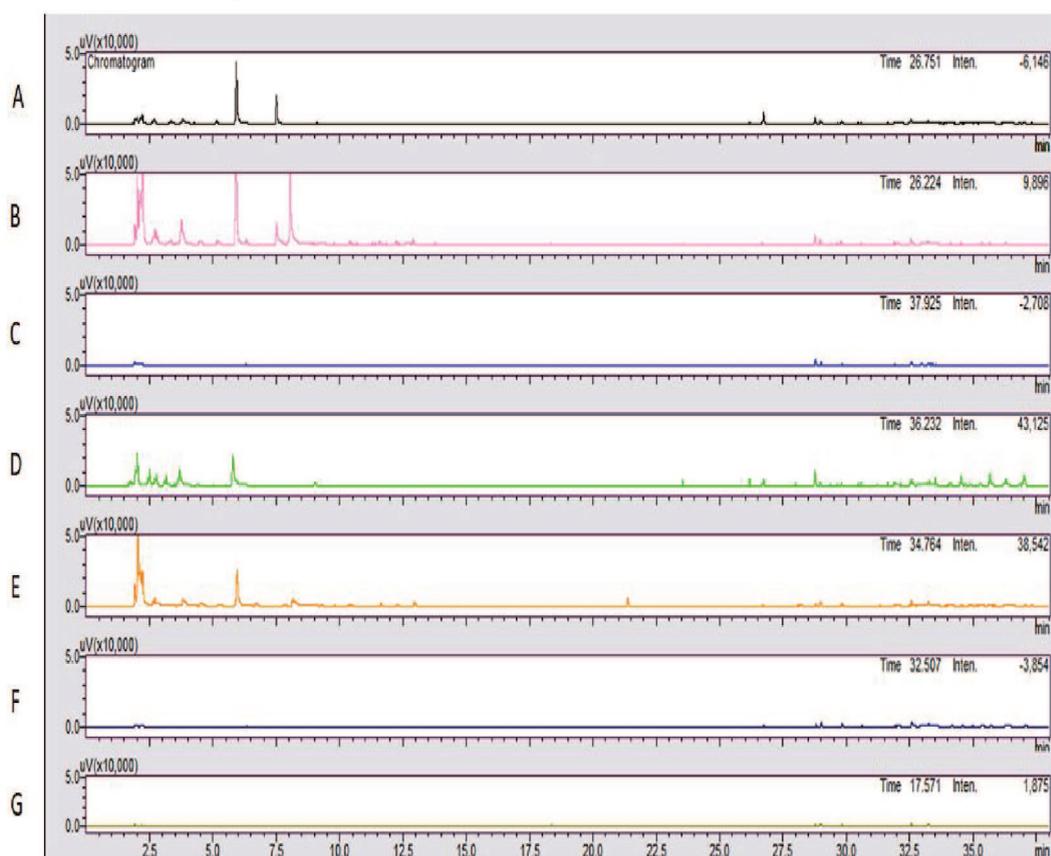


Tabela 2 Legenda dos tipos de óleos demonstrados na figura 4

Representação	Tipo de óleo
A	azeite de oliva misto 33% azeite/67% óleo de soja
B	azeite de oliva “gourmet”
C	óleo de soja
D	azeite de oliva misto 10% azeite/90% óleo de soja
E	azeite de oliva extra virgem
F	óleo de canola (ou colza)
G	óleo de milho

Os cromatogramas dos óleos representados por C, F e G não apresentaram resultados para fração volátil. Portanto, este método não é indicado para determinar os componentes desses óleos.

5.2 Cromatogramas de massas comparativos dos azeites

Após a análise prévia no GC-FID, as amostras A, B, D e E foram injetadas no GC-MS, sob as mesmas condições cromatográficas, a fim de identificar os principais componentes de cada amostra. Os perfis cromatográficos dos azeites de oliva estão dispostos nas figuras 5,6,7 e 8 e os compostos identificados estão apresentados conforme a tabela 3 junto aos seus tempos de retenção na coluna cromatográfica.

Tabela 3 Identificação através de GC-MS

TR (min)	Composto identificado	Amostra
6,01	Ácido butanóico	A

6,03	Hexenal	A,B,D e E*
7,5	(E)-2-hexenal	A,B e E
7,9	Ciclohexanol	A e B
8,1	Octanal	A,B e D
9,1	Heptanal	D

Figura 5 Cromatograma obtido através de GC-MS para a amostra A, de 5min até 12min.

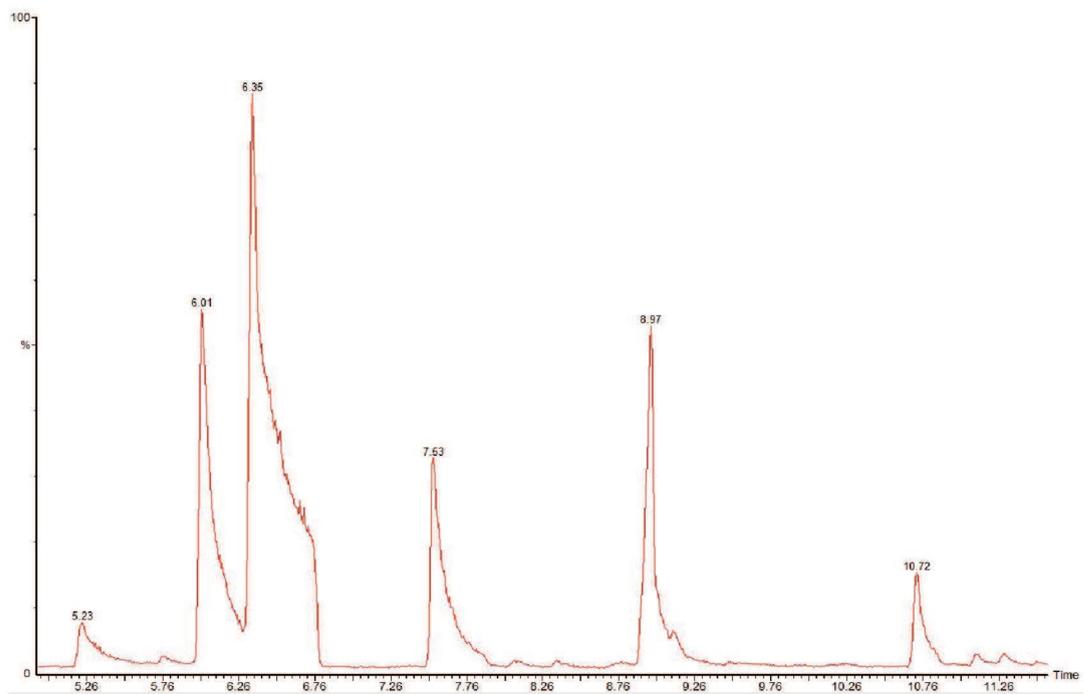


Figura 6 Cromatograma obtido através de GC-MS para a amostra B, de 5min até 10min.

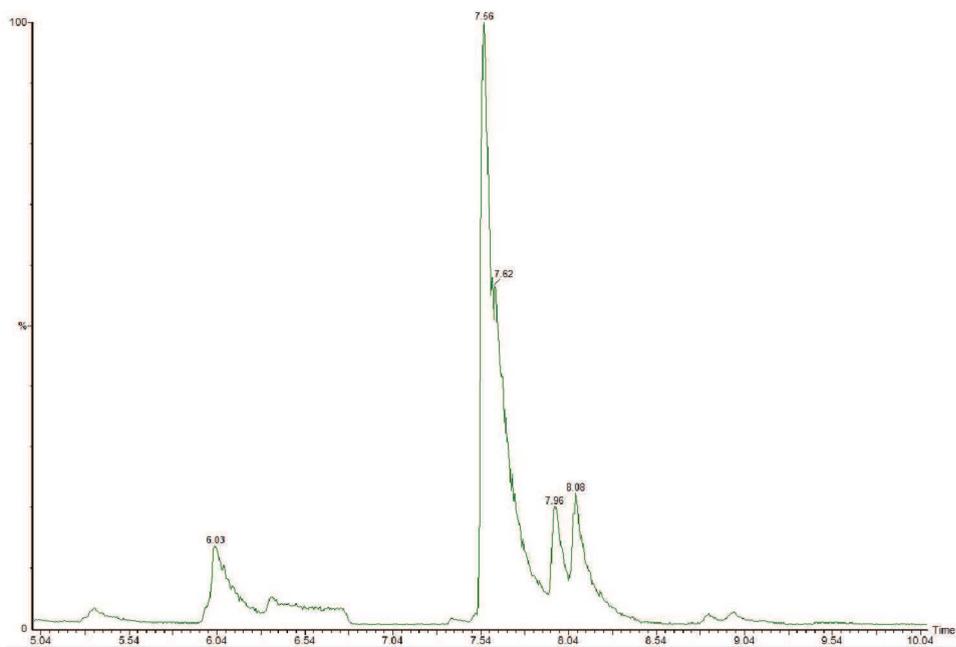


Figura 7 Cromatograma obtido através de GC-MS para a amostra D, de 4min até 12min

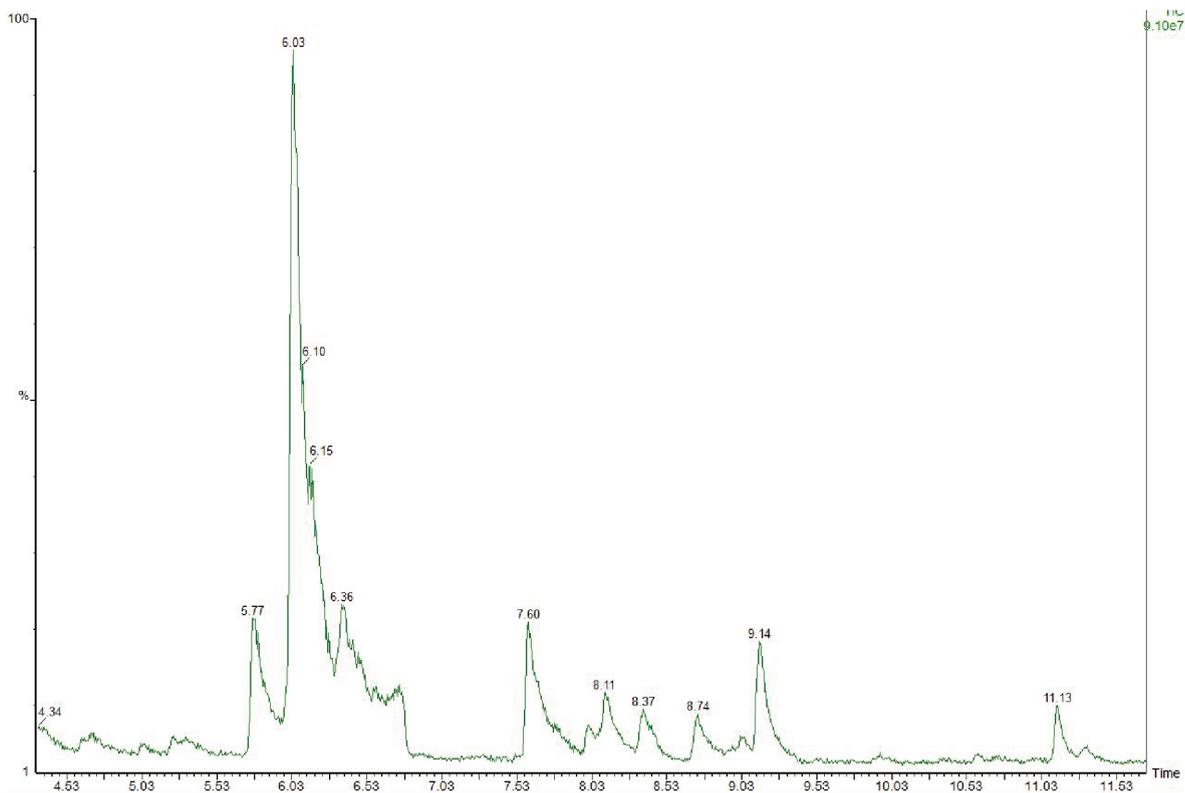
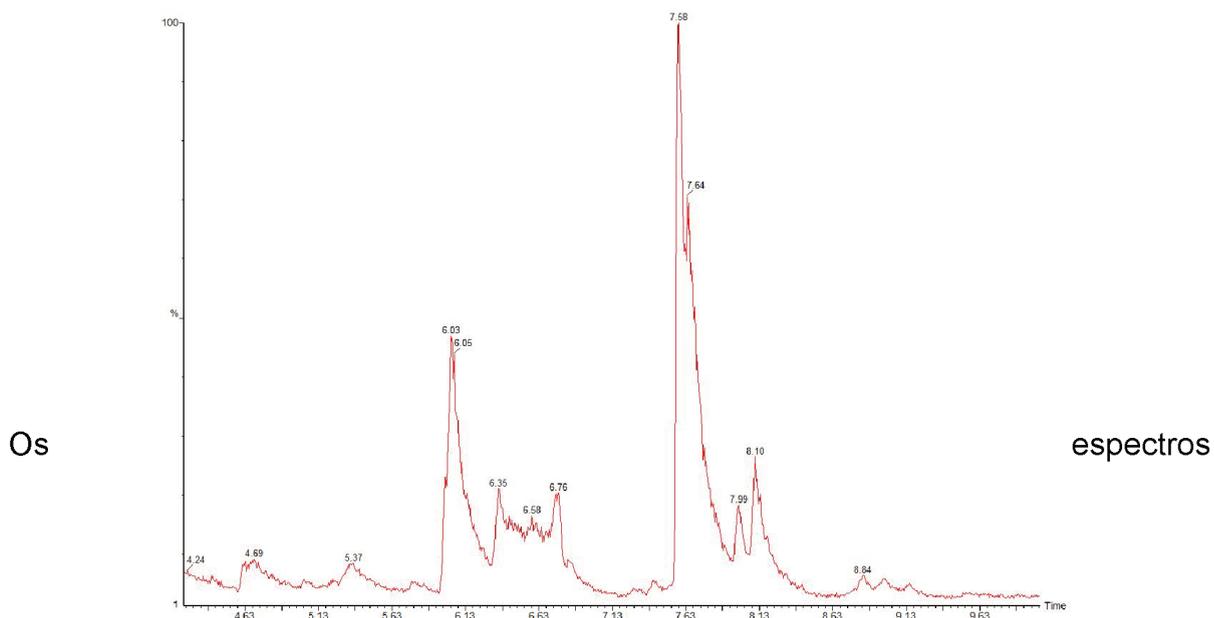


Figura 8 Cromatograma obtido através de GC-MS para a amostra E, de 4min até 10min.



Os apresentaram um número limitado de compostos se comparado com os resultados da metodologia original. Os compostos com tempo de retenção de 5min até 10min

presentes no cromatograma obtidos no GC-FID de foram analisados individualmente no GC-MS. Onde identificamos os compostos hexenal (TR=6,03min) e o (E)-2-hexenal (TR=7,5min) com abundância. Estes que são dois dos compostos mais importantes para o odor característico do azeite de oliva. Nas amostras B e E a quantidade de (E)-2-hexenal é maior do que em A e D. Nas amostras A e D a quantidade de hexenal é maior do que em B e E. A relação da quantidade de hexenal e (E)-2-hexenal indica que as amostras B e E possivelmente possuem uma qualidade de odor melhor que as demais e estão menos oxidados⁴.

6 CONCLUSÃO

Dentre diversos compostos voláteis existentes no azeite de oliva identificados através de análise no GC-MS os que ficaram mais proeminentes em todas as amostras foram o hexenal (TR=6,03min) e o (E)-2-hexenal (TR=7,5min), os demais compostos identificados não possuem tanta influência no odor do azeite de oliva. Este resultado nos indica que os azeites de oliva A e B são frescos e de boa qualidade de odor. A quantidade comparativa de hexenal, presentes em abundância nos azeites A e D, não nos permite avaliarmos sobre o estado de oxidação dos azeite, mas a relação com do hexenal com o (E)-2-hexenal sim, na amostra D não foi identificado o (E)-2-hexenal. As amostras A e D são formadas por misturas de azeite de oliva com outros óleos vegetais, o que impactou diretamente na qualidade dos compostos voláteis presentes que foram identificados. Segundo os cromatogramas dos demais óleos vegetais das amostras C, F e G, não foi possível extrair das amostras e em seguida dessorver os compostos da fração volátil destes óleos segundo a metodologia adotada, sendo assim não é possível a identificação de contaminação nos azeites de oliva por adição de óleos de soja, girassol, canola e milho por este método. Porém cabe ressaltar que este método foi muito seletivo para o composto (E)-2-hexenal que está presente em todos azeites de oliva testados.

7 REFERÊNCIAS

- 1 Vichi, S.; Castellote, A.I.; et al. Analysis of virgin olive oil volatile compounds by headspace solid-phase microextraction coupled to gas chromatography with mass spectrometric and flame ionization detection. **Journal of Chromatography A**, v. 983, n. 1–2, p. 19–33, 2003.
 - 2 Angerosa, F. Influence of volatile compounds on virgin olive oil quality evaluated by analytical approaches and sensor panels. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 104, n. 9–10, p. 639–660, 2002.
 - 3 Guido Flamini, *; Pier Luigi Cioni, and; et al. Volatiles from Leaves, Fruits, and Virgin Oil from *Olea europaea* Cv. *Olivastra* Seggianese from Italy†. 2003.
 - 4 Kalua CM., Allen MS., Bedgood Jr DR., Bishop AG., Prenzler PD., R.K. Olive oil volatile compounds, flavour development and quality: a critical review. **Food Chemistry**, p. 100, 273–286 le, 2007.
 - 5 Arthur, C.L.; Pawliszyn, J. Solid phase microextraction with thermal desorption using fused silica optical fibers. **Analytical Chemistry**, v. 62, n. 19, p. 2145–2148, 1990.
 - 6 Vilela, F.; Lourdes, Z. De AMOSTRAGEM DE COMPOSTOS ORGÂNICOS VOLÁTEIS NO AR UTILIZANDO A TÉCNICA DE MICROEXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA Fabrício Vilela Parreira e Zenilda de Lourdes Cardeal*. v. 28, n. 4, p. 646–654, 2005.
 - 7 Amostras, P.D.E. Recentes avanços da microextração em fase sólida no tubo (in-tube SPME) e sua aplicação em análises ambientais e alimentícias. **Scientia Chromatographica**, v. 7, n. 4, p. 297–315, 2015.
 - 8 Talhavini, M.; Vieira, M.L.; et al. Aplicação da Técnica de SPME-GC-MS na Detecção de Acelerantes em Resíduos de Incêndios. **Sociedade Brasileira de Química**, v. 33, n. 1c, p. 10000000, 2009.
 - 9 Henryk H. Jeleń, *; Małgorzata Obuchowska; et al. Headspace Solid-Phase Microextraction Use for the Characterization of Volatile Compounds in Vegetable Oils of Different Sensory Quality. 2000.
 - 10 Graham, K.N.; Sarna, L.P.; et al. Solid-phase microextraction of the herbicide metolachlor in runoff and tile-drainage water samples. **Journal of Chromatography A**, v. 725, n. 1, p. 129–136, 1996.
- Gomes, J.C., Fernando, P., & Santos, A. (2010). Universidade Estadual de Campinas Instituto de Química Departamento de Química Orgânica.

12 Auria, M.D. The use of SPME – GC – MS in the analysis of flavor of virgin olive oil. n. May, 2014.

13 and, A.S.; Pawliszyn*, J. Analysis of Flavor Volatiles Using Headspace Solid-Phase Microextraction. **J. Agric. Food Chem.**, v. 44 (8), pp,

14 .SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. **PRINCIPIOS DE ANÁLISIS INSTRUMENTAL.**

15 Wilson & Walker. Principles and Techniques of Biochemistry and Molecular. In: **Principles and Techniques of Biochemistry and Molecular Biology**. p. Página 352.

16 Operacional Padrão, P.; Alessandra da Silva Moura, J.; et al. **UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO DEPARTAMENTO DE OCEANOGRAFIA LABORATÓRIO DE COMPOSTOS ORGÂNICOS EM ECOSISTEMAS COSTEIROS E MARINHOS-ORGANOMAR LIMPEZA E PREPARAÇÃO DE VIDRARIAS PARA ANÁLISE DE COMPOSTOS ORGÂNICOS.** 2012.