

DILMA BUDZIAK

**DESENVOLVIMENTO E APLICAÇÃO DE FASES EXTRATORAS PARA
TÉCNICAS DE PREPARAÇÃO DE AMOSTRAS**

FLORIANÓPOLIS, SC – BRASIL

Fevereiro 2009

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

**DESENVOLVIMENTO E APLICAÇÃO DE FASES EXTRATORAS PARA
TÉCNICAS DE PREPARAÇÃO DE AMOSTRAS**

Tese de doutorado desenvolvida no Departamento de Química da
Universidade Federal de Santa Catarina - Brasil e no Departamento de
Farmacia da Universidade de Torino - Itália
como requisito para a obtenção do grau de Doutora em Química.

Aluna: Dilma Budziak
Orientador: Dr. Eduardo Carasek da Rocha

Florianópolis, fevereiro de 2009

Dilma Budziak

**DESENVOLVIMENTO E APLICAÇÃO DE FASES EXTRATORAS PARA
TÉCNICAS DE PREPARAÇÃO DE AMOSTRAS**

Esta tese foi julgada e aprovada para a obtenção do título de **Doutora em Química** no **Programa de Pós-Graduação em Química** da Universidade Federal de Santa Catarina

Florianópolis, 17 de fevereiro de 2009.

Prof. Dr. Ademir Neves
Coordenador do Programa

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Eduardo Carasek da Rocha
Orientador (UFSC)

Prof. Dr. Fabio Augusto
Relator (UNICAMP)

Prof^a. Dra. Elina Bastos Caramão
(UFRGS)

Prof. Dr. Gustavo Amadeu Micke
(UFSC)

Prof. Dr. Luiz Augusto Santos Madureira
(UFSC)

A Deus!

E aos meus pais, Lucia e Pedro,
maiores responsáveis por tudo que sou e
que conquistei até hoje.

Agradecimentos

A Deus por tudo!

Aos meus pais, Pedro e Lucia, e aos meus irmãos, Dilmar, Josimar e Luiz Alberto, por estarem ao meu lado em todos os momentos.

Ao Gennaro, simplesmente por existir e fazer parte da minha vida.

Ao Professor Dr. Eduardo Carasek pelo incentivo, orientação e amizade demonstrados nos mais de oito anos de convivência.

Ao amigo Edmar Martendal, primeiramente, pela preciosa amizade e também pela valiosa ajuda, merecendo grande parte do mérito deste trabalho.

Aos amigos do laboratório: Gizelle Bedendo, Heloisa Maltez, Janaína H. Bortoluzzi, Jeferson Carletto, Joyce Bianchin, Kalya C Di Pietro Roux, Marcel Silveira, Renata Mior, Rosilene Dutra e Raquel Medeiros pela amizade e apoio.

A Aline Fernandes de Oliveira, minha grande amiga que se fez presente mesmo com um oceano de distância.

A Karen Segala, Denise Pacheco e Ines Rosane W. Z. de Oliveira pela valiosa ajuda com o potenciostato.

A Empresa Nano Endoluminal pelo fornecimento da liga de NiTi, principalmente ao Ricardo Peres pela disponibilidade e atenção.

Al mio relatore in Italia Professor Dr. Carlo Bicchi per l' opportunità a me concessa per la realizzazione di parte di questo lavoro nel suo laboratorio a Torino, per l' attenzione e la disponibilità a me sempre dedicate.

Alla Ricercatrice Dottoressa Barbara Sgorbini per il suo grande aiuto nella realizzazione del mio progetto a Torino, per l' attenzione e la disponibilità e soprattutto per la sua amicizia.

Alle Ricercatrice Erica Liberto e Chiara Cordero per l' attenzione e la disponibilità.

Agli amici del Laboratorio di Fitochimica dell'Università degli Studi di Torino, in particolare Angelo Potenzieri, Cecilia Cagliero, Chiara Mattioda, Cristina Casetta, Francesca Canale, Graziella Madaro, Maura Matteodo, Rosanna Ruosi e Stefano Montesuelli che hanno reso il mio soggiorno in Italia molto più gioioso e piacevole.

To my friend Sony Joseph for the friendship, for the English lessons e for his company in the coffee-break.

Aos professores que fizeram parte da banca de avaliação deste trabalho.

A Universidade Federal de Santa Catarina e ao Departamento de Pós-Graduação em Química.

All'Università degli Studi di Torino e al Dipartimento di Scienza e Tecnologia del Farmaco.

A Graça e ao Jadir pela atenção e prestatividade.

Ao CNPq pelo suporte financeiro no Brasil e pela bolsa de doutorado sanduíche na Itália.

Sumário

Resumo	4
Riassunto	5
Abstract	6
Introdução	7
Capítulo 1	11
Microextração em fase sólida (SPME).....	11
1.1. Introdução	11
1.2. Tecnologia Sol-gel.....	14
1.3. Aplicação da liga de NiTi eletroliticamente recoberta com ZrO ₂ como novo suporte para SPME	21
Capítulo 2	23
Estratégias de otimização	23
Capítulo 3	27
Preparação e aplicação da liga de NiTi recoberta com ZrO₂ como nova fibra para SPME	27
3.1. Introdução	27
3.2. Objetivo	27
3.3. Parte experimental	28
3.4. Resultados e discussões.....	30
3.5. Conclusões parciais	37

Capítulo 4	38
Aplicação da fibra NiTi-ZrO₂ na determinação de halofenóis em amostras de água.....	38
4.1. Introdução	38
4.2. Objetivo	39
4.3. Parte experimental	39
4.4. Resultados e discussões.....	41
4.5. Conclusões parciais	49
Capítulo 5	50
Aplicação da fibra de NiTi-ZrO₂ na determinação de haloanisóis em amostras de vinho	50
5.1. Introdução	50
5.2. Objetivo	51
5.3. Parte experimental	51
5.4. Resultados e discussões.....	52
5.5. Conclusões parciais	65
Capítulo 6	66
Nova fibra de PDMS obtida por processo sol-gel usando como suporte a liga de NiTi zirconizada	66
6.1. Introdução	66
6.2. Objetivo	66
6.3. Parte experimental	67
6.4. Resultados e discussões.....	69
6.5. Conclusões parciais	79
Capítulo 7	80
Aplicação da fibra NiTi-ZrO₂-PDMS na determinação de pesticidas em infusões herbais	80
7.1. Introdução	80
7.2. Objetivo	81
7.3. Parte experimental	81
7.4. Resultados e discussões.....	83
7.5. Conclusões parciais	91

Capítulo 8	92
Nova fibra de PEG empregando a liga de NiTi zirconizada como substrato para reações sol-gel	92
8.1. Introdução	92
8.2. Objetivo	92
8.3. Parte experimental	93
8.4. Resultados e discussões	95
8.5. Conclusões parciais	102
Capítulo 9	103
Aplicação da fibra NiTi-ZrO₂-PEG na determinação de haloanisóis em rolha de cortiça	103
9.1. Introdução	103
9.2. Objetivo	104
9.3. Parte experimental	104
9.4. Resultados e discussões	105
9.5. Conclusões parciais	112
Conclusões	113
Referências bibliográficas	116
Apêndice	131
Extração sortiva com membrana de silicone a partir do headspace (HS-SMSE) na análise da fração volátil de matrizes vegetais	131
Revisão bibliográfica	131
Introdução	138
Objetivos	140
Parte experimental	141
Resultados e discussões	143
Conclusões	156
Referências bibliográficas	157
Simbologias e abreviações	162
Anexos	165

Resumo

O aperfeiçoamento de técnicas de preparação de amostra baseadas em sorção e/ou o desenvolvimento de novos materiais para as mesmas é extremamente importante para ampliar sua aplicabilidade, eficiência e robustez. A fragilidade da sílica fundida e a necessidade de suportes robustos para microextração em fase sólida (SPME) têm levado ao desenvolvimento e aplicação de novos materiais. A liga de NiTi é aplicada neste trabalho como suporte para SPME devido a suas propriedades de superelasticidade e memória de forma. Este suporte metálico foi recoberto com ZrO_2 por eletrodeposição e avaliado como sorvente extrator para SPME e também como substrato para reações sol-gel com polidimetilsiloxano (PDMS) e polietilenoglicol (PEG). A superfície e morfologia dos suportes e recobrimentos poliméricos foram avaliadas por microscopia eletrônica de varredura e microanálise por energia dispersiva. As três fibras propostas (NiTi- ZrO_2 , NiTi- ZrO_2 -PDMS e NiTi- ZrO_2 -PEG) foram aplicadas em diferentes matrizes apresentando ótima seletividade, precisão, robustez e estabilidade térmica. Extração sortiva com membrana de silicone (SMSE) é um recente aparato para extração sortiva, já aplicada para amostragem em fase líquida, onde os analitos são recuperados de uma amostra aquosa por um pequeno tubo de PDMS onde seu espaço interno é preenchido com solventes orgânicos que agem como um modificador das propriedades do PDMS. SMSE foi aplicado com sucesso e pela primeira vez neste trabalho com amostragem a partir do headspace da amostra (HS-SMSE) avaliando o efeito solvente-modificador do PDMS em um número de matrizes de origem vegetal contendo componentes altamente voláteis e/ou polares. O uso de solventes para modificar as propriedades do PDMS resulta em uma simples e eficiente maneira para modificar as suas propriedades e estender a sua aplicabilidade.

Riassunto

Il perfezionamento delle tecniche di preparazione del campione basate sulla sorzione e/o lo sviluppo di nuovi materiali per le stesse é estremamente importante per ampliare le applicazioni, l'efficienza e la robustezza di queste tecniche. La fragilit  della silice fusa e la necessit  di supporti pi  robusti per la solid phase microextraction (SPME) ha portato all'applicazione e allo sviluppo di nuovi materiali. La lega NiTi   stata applicata in questo lavoro come supporto per SPME per le sue propriet  di elasticit  e shape memory. Questo supporto di metallo   stato ricoperto con ZrO_2 per mezzo di elettrodeposizione e valutato come fibra di SPME e anche come substrato per reazione sol-gel con polidimetilsilossano (PDMS) e polietilenglicole (PEG). La superficie e la morfologia dei supporti e dei rivestimenti polimerici sono stati valutati per scanning electronic microscopy e dispersive energy microanalysis. Le tre fibre presentate (NiTi- ZrO_2 , NiTi- ZrO_2 -PDMS e NiTi- ZrO_2 -PEG) sono state applicate in diverse matrici presentando ottima selettivit , precisione, robustezza e stabilit  termica. L'estrazione mediante sorzione con membrane di silicone (SMSE)   uno recente approccio, gi  applicato per estrazione in fase liquida, in cui gli analiti sono stati recuperati da un campione acquoso mediante un piccolo tubo di PDMS il cui spazio interno   stato riempito con solventi organici che agiscono come modificatori delle propriet  del PDMS. SMSE   stato applicato con successo e per la prima volta nello spazio di testa del campione (HS-SMSE), valutando l'effetto solvente-modificatore del PDMS in un numero di matrici di origine vegetale contenenti componenti volatili e/o polari. L'utilizzo di solventi risulta essere un mezzo semplice ed efficiente per modificare le propriet  del PDMS ed ampliare le sue applicazioni.

Abstract

The improvement of sorption-based sample preparation techniques and/or the development of new materials are extremely important to extend their applicability, efficiency and robustness. The fragility of fused silica and the necessity of robust supports for solid phase microextraction (SPME) have taken to the development and application of new materials. The NiTi alloy is applied in this work as SPME support due to its superelasticity and shape memory properties. This metallic support was coated with ZrO_2 by electrodeposition and evaluated as an SPME fiber and also as a substrate for sol-gel reactions with polydimethylsiloxane (PDMS) and polyethylene glycol (PEG). The surface and morphology of the support and polymeric coating was evaluated by scanning electronic microscopy and dispersive energy microanalysis. The three proposed fibers: NiTi- ZrO_2 , NiTi- ZrO_2 -PDMS and NiTi- ZrO_2 -PEG, were applied in different matrices presenting excellent selectivity, precision, robustness and thermal stability. Silicon Membrane Sorptive Extraction (SMSE) is a recent approach for sorptive extraction, already applied for liquid phase sampling, where analytes are recovered from a water sample by a short PDMS tubing filled with different organic solvents which act as modifier of PDMS properties. SMSE is here successfully used for the first time for the headspace sampling (HS-SMSE) evaluating the ability of solvent-modified PDMS tubing of a number of matrices of vegetable origin containing highly volatile and/or polar components. The use of solvents for modification of PDMS properties was simple and efficient and extended its applicability.

Introdução

O desenvolvimento de métodos analíticos para a investigação de substâncias tóxicas, para assegurar a saúde pública, é de extrema importância. O impacto na saúde humana provocado por substâncias tóxicas tem gerado a necessidade de se determinar as fontes de exposição (água, ar, solo, alimentos, etc.). A exposição humana a compostos orgânicos voláteis (VOC) se dá principalmente via ambiente, trabalho ou produtos de consumo. Como consequência, a detecção e o monitoramento desses compostos para determinar a exposição humana são requeridos. Seus efeitos sobre a saúde dependem da duração e dos níveis de exposição. Uma clara evidência em humanos, sustentada por estudos em animais, tem demonstrado que muitos destes VOC possuem efeitos carcinogênicos e teratogênicos. Alguns podem também danificar o sistema imunológico enquanto outros têm efeitos adversos no desenvolvimento de tecidos. Além disto, alguns VOC se apresentarem como grandes vilões globais causando efeitos severos no ambiente por acelerarem o efeito estufa [1].

Com esta crescente preocupação ambiental e com a saúde, a capacidade analítica para extração e pré-concentração de traços de contaminantes orgânicos de amostras aquosas, líquidas ou sólidas tornou-se extremamente importante [2]. Várias formas de extração como Soxhlet e extração por fluido supercrítico [3], extração líquido-líquido [4], extração acelerada por solvente [5], extração com solvente assistida por microondas [6], extração em fase sólida [7], purge and trap [8], entre outros métodos, são tradicionalmente usados para este propósito. Muitos métodos oficiais empregam grandes volumes de solventes orgânicos tóxicos, outros são tediosos e economicamente inviáveis. Muitos destes métodos requerem a

coleta de amostra e sua transferência para o laboratório para futuro processamento. Incorreta manipulação durante a coleta da amostra, transporte e estocagem pode resultar em uma significativa variabilidade nos resultados da análise [2].

O desenvolvimento de métodos simples, eficientes e economicamente viáveis é crucial para o monitoramento e a avaliação ambiental. A análise de compostos orgânicos em ar, água e solo tem alcançado uma importância crescente na problemática ambiental [9].

A miniaturização tem se tornado uma das tendências dominantes em química analítica. Exemplos típicos da miniaturização de técnicas para a preparação de amostras incluem principalmente a microextração líquido-líquido [10], discos ou cartuchos de SPE e SPE *on-line* [11, 12], microextração em seringa empacotada (MEPS) [13 – 16], extração com gota única (SDME) [17] e extração assistida por membrana (MAE) [18]. Técnicas como estas, quando usadas em combinação com sistemas analíticos convencionais, podem resultar em análise mais rápida, levando a alta frequência analítica, menor consumo de solventes e manipulação da amostra. Além disto, estas técnicas podem manter ou até melhorar a sensibilidade quando comparadas a técnicas convencionais. Em particular, espera-se que a redução no consumo de solventes em laboratórios analíticos contribua significativamente na redução dos custos de análise. Muitas técnicas de preparação de amostras miniaturizadas podem ser automatizadas e acopladas para análise *on-line*. Este acoplamento de extração e análise favorece a total extração e transferência para o sistema analítico, resultando em alta sensibilidade e uma perda potencial do analito mais baixa. Além disso, o analista pode usar pequenos volumes de amostra [2].

Técnicas de preparação de amostras livres de solventes que são baseadas em extração por sorção vêm ganhando a atenção de pesquisadores. Estas técnicas incluem principalmente SPME [19], extração com barra magnética (SBSE) [20] e recentemente, extração por Needle Trap [21, 22].

Extração sortiva mostrou ser uma técnica interessante e ambientalmente viável em comparação a extração com solvente.

Os materiais sortivos geralmente utilizados podem ser de dois tipos: sólidos (extração por adsorção) e líquidos (extração por absorção). A Figura 1 mostra a fase inicial e o alcance do equilíbrio de extração para os dois diferentes mecanismos: absorção e adsorção (na presença de poros grandes e pequenos).

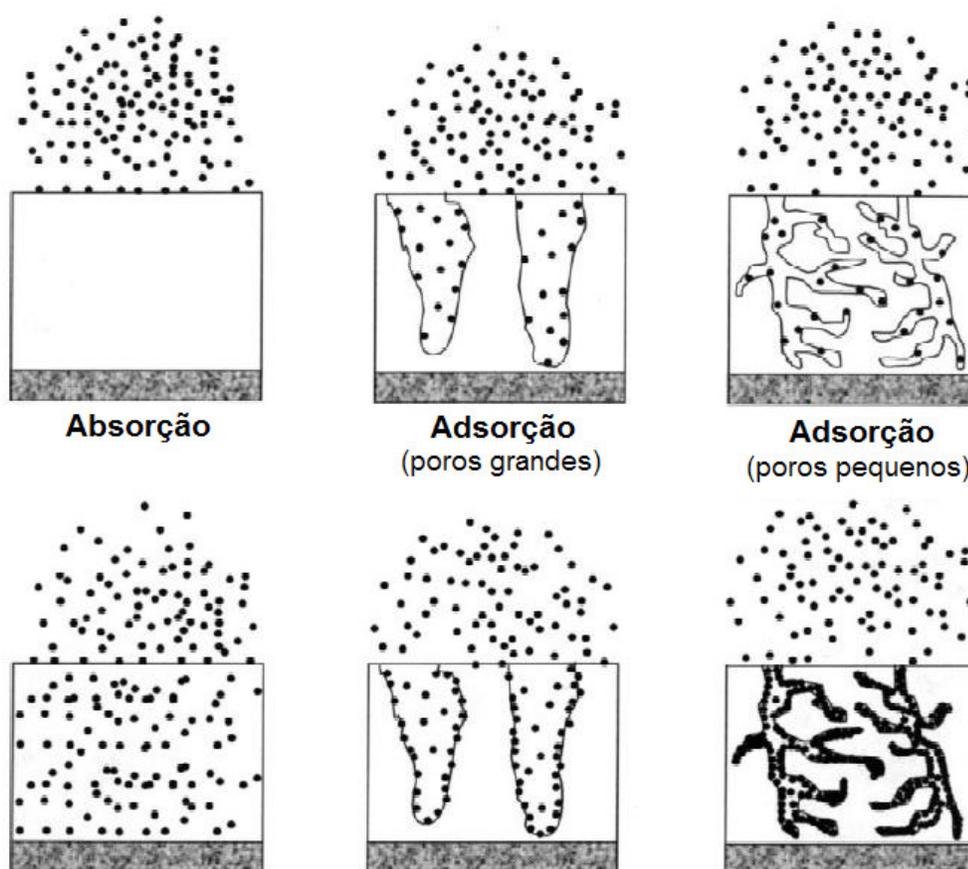


Figura 1. Representação esquemática dos mecanismos de absorção e adsorção.

Na extração por absorção, os analitos são extraídos da matriz (comumente aquosa) em uma fase líquida não miscível, os analitos difundem-se no extrato de revestimento polimérico. Em contraste à extração com

adsorventes (na qual os analitos são ligados aos sítios ativos da superfície), na extração por absorção não somente a área superficial, mas também a quantidade total da fase extratora é importante. A fase mais extensamente usada é o polidimetilsiloxano (PDMS). Esta fase, também é usada como fase estacionária em cromatografia gasosa (GC), é termicamente estável, podendo ser usada em uma ampla faixa de temperatura (220 - 320°C), e possui interessantes propriedades de difusão. A extração com PDMS pode, por essa razão, ser comparada com a microextração líquido-líquido.

O material adsorvente mais comumente usado em processos de extração por adsorção é o carboxen, o qual pode ter porosidade diversa entre micro-, meso- e macroporos, de 6 a 50 Å, ocorrendo uma competição entre moléculas com maior e menor afinidade pelo material sorvente. Após o processo de extração, os solutos podem ser introduzidos quantitativamente no sistema analítico por dessorção térmica (DT) ou por dessorção líquida (DL). O primeiro processo tem uma alta sensibilidade porque todo o extrato pode ser analisado por DT e GC. Por outro lado, DL pode ser aplicada a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), eletroforese capilar (CE) ou cromatografia gasosa com capacidade para injeção de grandes volumes e, compostos de elevada polaridade ou termicamente lábeis podem ser analisados [20, 23].

Capítulo 1

Microextração em fase sólida (SPME)

1.1. Introdução

A técnica de microextração em fase sólida (SPME) primeiramente introduzida pelo grupo de Pawliszyn [24], agora amplamente aceita e com constante aumento no número de novas publicações, oferece soluções para vários problemas de amostragem.

A SPME representa um importante avanço na eficiência de extração de vários poluentes orgânicos em nível de traço [25] de matrizes líquidas [26], sólidas [27] e gasosas [28]. SPME também tem sido usada para amostragem de compostos voláteis e semi-voláteis de amostras complexas como lodo [29]. Adicionalmente, a SPME também tem sido aplicada com sucesso como um dispositivo para amostragem de compostos orgânicos voláteis de amostras biológicas [30 – 32] e gêneros alimentícios [33 – 35] em análise cromatográfica.

O dispositivo básico de SPME, ilustrado na Figura 2, consiste em um suporte (mais comum o uso de sílica fundida), com cerca de 100 mm de comprimento, 0,110 mm de diâmetro e 10 mm de sua extremidade recoberto com uma fase estacionária (fase extratora). Materiais poliméricos termicamente estáveis que permitem uma difusão rápida do soluto são comumente usados como fases estacionárias [2].

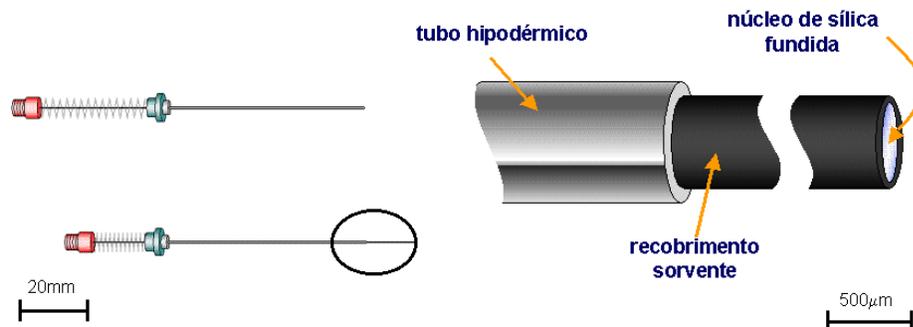


Figura 2. Dispositivo da fibra de SPME.

Este suporte parcialmente recoberto é conectado a um tubo capilar de aço (tubo hipodérmico), o qual possui uma rosca em sua extremidade para possibilitar seu acoplamento a uma espécie de seringa, denominada holder. Um desenho do dispositivo completo pode ser verificado na Figura 3. Através de um sistema tipo êmbolo, o holder permite que a fibra seja retraída para dentro da agulha de aço inoxidável durante as operações que possam danificá-la, tais como a de transporte e perfuração do septo do frasco da amostra e do injetor do cromatógrafo, e exposta ao ambiente nos processos de extração e dessorção [36].

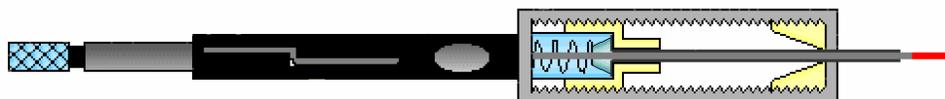


Figura 3. Vista interna do holder (amostrador) com a fibra exposta.

O procedimento de extração inclui duas etapas. Na primeira delas, com a fibra recoberta protegida pela agulha do holder, o septo do frasco de extração é perfurado, e a fibra é exposta na solução amostra ou no seu headspace até que se estabeleça um equilíbrio de partição (ou de adsorção, para o caso de recobrimentos sólidos) do analito, entre a fibra e o meio que a envolve. Em uma segunda etapa, a fibra contendo os analitos concentrados é transferida para o cromatógrafo gasoso onde dessorção, separação e quantificação dos analitos extraídos acontecem. Novamente a fibra só é exposta após a

perfuração do septo pelo auxílio da agulha do holder [36, 37]. A seqüência de procedimentos para a extração e dessorção é mostrada na Figura 4.

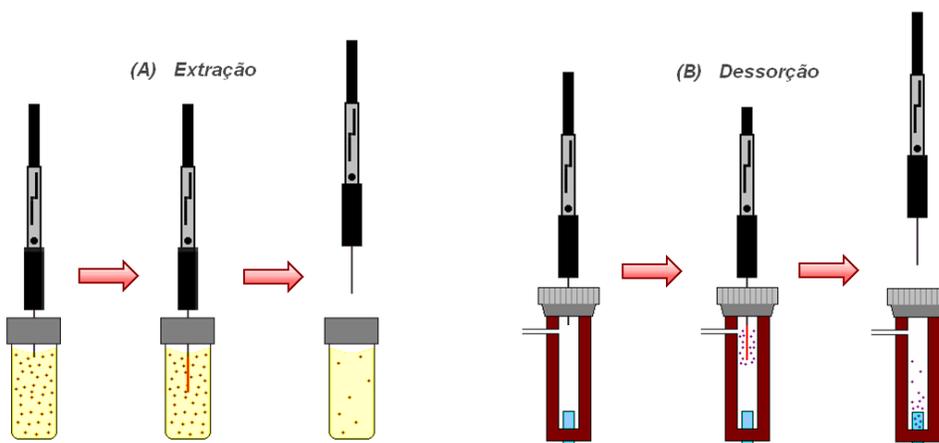


Figura 4. Etapas do processo de microextração em fase sólida; (A) sorção e (B) dessorção no injetor do CG.

Tipicamente, SPME usa fibras de sílica fundida com recobrimento polimérico para extrair compostos alvo de diferentes matrizes, por essa razão, a parte chave do dispositivo de SPME é o recobrimento da fibra.

Primeiramente, somente os recobrimentos de poli(dimetilsiloxano) (PDMS) e poliacrilato (PA) eram comercializados. PDMS é uma fase pouco polar que extrai analitos pouco polares muito melhor que a fibra PA a qual tem uma grande afinidade por compostos polares. Mais tarde, recobrimentos com fases mistas como, PDMS-divinilbenzeno (DVB), Carboxen-PDMS, Carbowax-DVB, também foram utilizadas [38].

Recentemente muitos novos tipos de fibras, como as partículas de sílica ligadas com C8, C18 [39], grafite [40], carvão ativado [41], alumínio anodizado [42], poli-pirrol [43, 44], polianilina [45 – 47], fibra recoberta com a impressão molecular do polímero (MIP) [48, 49], cloreto de cobre(I) [50], entre outras tem sido preparadas.

Entretanto, muitas destas fibras são preparadas por mera deposição física de um recobrimento polimérico sobre a superfície de sílica fundida. A ausência de uma interação adequada entre a fase estacionária e a superfície da sílica fundida pode ser responsável pela baixa estabilidade química e térmica [2, 38, 51, 52].

É evidente que futuros avanços na tecnologia de SPME devem depender grandemente do avanço científico levando ao desenvolvimento de tecnologias mais eficientes para a criação de fases extratoras mais seletivas e a imobilização química destas, como filmes de elevada estabilidade operacional (temperatura, solvente, etc.).

A química de sol-gel oferece um simples e conveniente caminho para a síntese de materiais avançados e a aplicação dos mesmos como revestimentos de superfícies. A química de sol-gel pode fornecer a incorporação eficiente de componentes orgânicos em estruturas poliméricas inorgânicas sob circunstâncias térmicas extremamente suaves [2].

1.2. Tecnologia Sol-gel

O processo de sol-gel consiste na rota de síntese onde ocorre uma transição do sistema sol para um sistema gel. O termo sol é empregado para definir uma dispersão de partículas coloidais (dimensão entre 1 e 100 nm) estável em um fluido. O termo gel pode ser visto como sendo um sistema formado pela estrutura rígida de partículas coloidais (gel coloidal), as quais resultam da agregação linear de partículas primárias, ou de cadeias poliméricas (gel polimérico) que imobiliza a fase líquida nos seus interstícios, onde a gelatinização ocorre pela interação entre as longas cadeias poliméricas lineares. A Figura 5 ilustra a diferença na formação de gel particulado e polimérico [53].

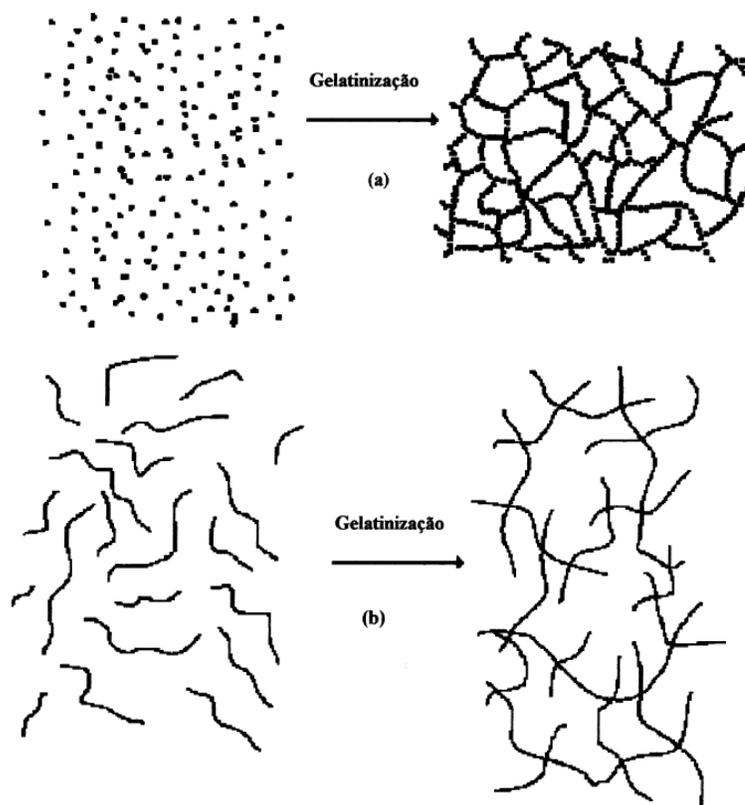


Figura 5. Esquema da transição sol-gel: (a) formação de gel particulado e (b) formação de gel polimérico.

O processo de sol-gel pode ser dividido em duas classes, dependendo da natureza do precursor inorgânico utilizado: a dos sais (cloretos, sulfetos, nitratos, etc) e a dos alcóxidos. A rota que envolve o uso de precursores do tipo alcóxido aparece como a mais versátil atualmente. A hidrólise de uma solução de tetraalcóxissilanos em um solvente orgânico, como o álcool, leva a formação de partículas com função silanol, as quais formam um sol pela polimerização via condensação, e a continuação do processo leva a um gel. Esta transformação é designada transição sol-gel. Após secagem do gel, um xerogel é formado. As reações químicas que ocorrem durante a formação do sol, do gel e do xerogel influenciam fortemente a composição e as propriedades do produto final [53].

A Tabela 1 lista os nomes e as estruturas químicas dos principais ingredientes da solução usada para o recobrimento sol-gel. A solução sol-gel contém quantidades apropriadas do polímero de recobrimento PDMS ou PEG, um precursor alcoxissilano (metiltrimetoxissilano, MTMOS), reagente de desativação da superfície (PMHS), e um catalisador ácido (95% TFA, contendo 5% de água).

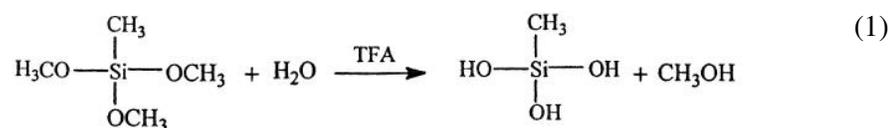
Tabela 1 . Nomes, funções e estruturas químicas dos reagentes usados no processo sol-gel para recobrimento de fibras de SPME.

Reagente	Função	Estrutura química
Metiltrimetoxissilano (MTMOS)	Precursor sol-gel	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ \text{H}_3\text{CO}-\text{Si}-\text{OCH}_3 \\ \\ \text{OCH}_3 \end{array}$
Poli(dimetilsiloxano) hidróxi terminal	Recobrimento da fase estacionária	$\text{HO}-\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ \text{Si} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}-\text{O}-\left(\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ \text{Si} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}-\text{O}\right)_n-\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ \text{Si} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}-\text{OH}$
Polietilenoglicol	Recobrimento da fase estacionária	$\text{HO}-\left(\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{C} \\ \\ \text{H} \end{array}-\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{C} \\ \\ \text{H} \end{array}-\text{O}\right)_m-\text{H}$
Poli(metilhidrosiloxano)	Reagente desativante	$\text{H}_3\text{C}-\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ \text{Si} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}-\left[\left(\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ \text{O}-\text{Si} \\ \\ \text{H} \end{array}\right)_x-\text{O}-\left(\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ \text{Si} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}-\text{O}\right)_y\right]_n-\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ \text{Si} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}-\text{CH}_3$
Ácido trifluoroacético (5% de água)	Ácido catalisador	CF_3COOH

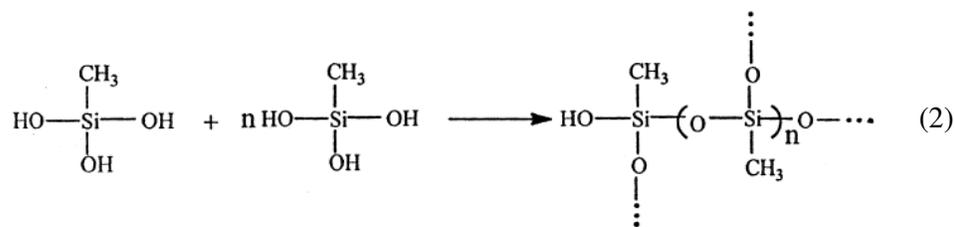
O material sol-gel é formado como um resultado da hidrólise do precursor alcóxisilano com subsequente condensação dos produtos hidrolisados, podendo submeter-se ao rachamento e ao encolhimento durante a etapa de secagem. Tanto o encolhimento quanto as rachaduras são efeitos indesejáveis durante o processo de secagem do gel. A origem de fraturas capilares é devida à evaporação do solvente dos poros do gel. Este problema se torna grandemente significativo para recobrimentos por sol-gel com

espessuras maiores que 0,5 -1 μm . No contexto de SPME, a preservação da estrutura interna é muito importante para que o recobrimento sol-gel possa fornecer as propriedades materiais desejadas. Uma rede sol-gel originária de um derivado alquil de um precursor tetraalcóxissilano (ex. metiltrimetoxissilano usado neste trabalho), possuem uma maior abertura em sua estrutura o que facilita a secagem, minimizando assim a tendência de fraturas [2].

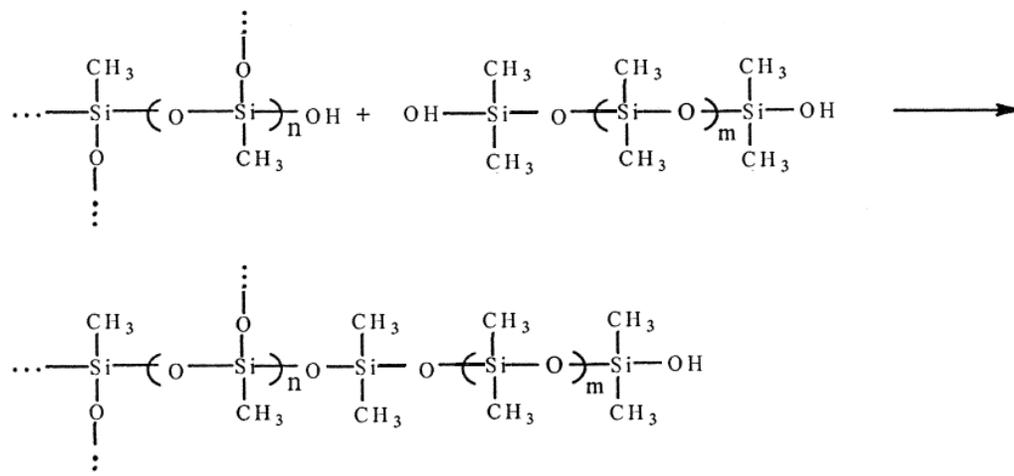
O processo sol-gel envolve duas principais etapas de reações: (1) hidrólise do precursor e (2) policondensação dos produtos hidrolizados. Estas reações são catalisadas por ácidos e bases (neste trabalho, TFA), levando à formação de uma rede polimérica. A reação do precursor metiltrimetoxissilano (MTMOS) pode ser representado pela seguinte equação [2, 53, 54]:



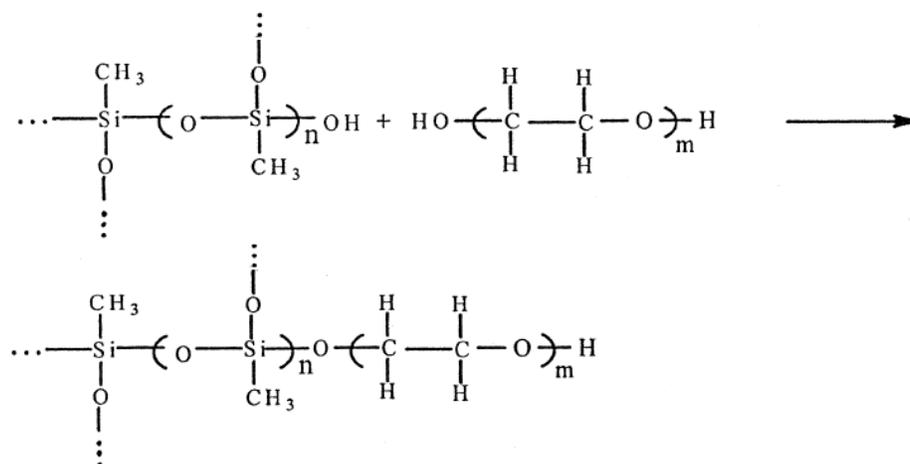
Os produtos hidrolizados podem sofrer reações de policondensação e produzir uma rede polimérica tridimensional. Esta pode ser descrita pela reação:



Chong *et. al.* [2], utilizaram na solução sol-gel poli(dimetilsiloxano) hidróxi terminal como reagente de recobrimento. O hidróxi terminal é ativado na solução sol-gel. A seleção deste polímero visa ligar quimicamente a fase estacionária de PDMS à rede polimérica crescente. A reação química envolvida pode ser esquematicamente representada pelo esquema:



Selecionando polietilenoglicol (PEG) como polímero de revestimento, a reação química pode ser representada pelo esquema [54]:



O grupo silanol da superfície dos suportes (geralmente sílica fundida) aceita parte das reações de condensação ligando quimicamente a rede polimérica na superfície dos suportes. Dessa maneira, o revestimento polimérico ligado à superfície do suporte é criado pela exposição da fibra utilizada como suporte na solução sol por um tempo determinado. O revestimento, ou filme polimérico, é quimicamente ligado e sua espessura pode ser controlada pela variação do tempo de exposição e concentração dos ingredientes da solução. Revestimentos com maiores espessuras podem ser obtidos por repetidas exposições dos suportes à solução sol-gel.

Do mecanismo de sol-gel apenas a primeira etapa, a hidrólise, é bem conhecida. As reações de condensação começam antes das reações de hidrólise terminarem, tornando o mecanismo muito complexo e envolvendo muitas reações de hidrólise e condensação ao mesmo tempo [53].

A técnica de recobrimento por sol-gel oferece importantes vantagens quando comparada com técnicas de recobrimento tradicionais [2, 38, 51, 52]:

I - Combina tratamento da superfície da fibra, recobrimento e imobilização da fase estacionária em uma única e simples etapa;

II - a estrutura porosa da superfície do revestimento por sol-gel fornece áreas de superfície elevadas permitindo assim uma elevada eficiência de extração;

III - relativa facilidade em mudar a composição do revestimento o que conseqüentemente resultará em diferentes seletividades;

IV - forte adesão entre o recobrimento e a superfície do suporte devido à ligação química, o que é importante para aumentar a estabilidade em operações que envolvem temperatura e solventes.

A última das vantagens citadas acima é especialmente importante para SPME.

Historicamente, o uso da tecnologia de sol-gel tem sido mencionada em meados de 1800 [55]. Inicialmente aplicada em SPME por Chong *et al.* [2] in 1997, tem sido aplicada com sucesso no preparo de diferentes fibras, como pode ser verificado através da Tabela 2.

Tabela 2. Diferentes fibras para microextração em fase sólida desenvolvidas através de processo sol-gel.

Recobrimento	Espessura filme	Compostos analisados	Ref.
Polidimetilsiloxano (<i>PDMS</i>)	10 μm	PAH ^a , n-alcenos, álcoois e fenóis.	[2]
PDMS	44 μm	BTEX ^b	[56]
Poli(etilenoglicol) (<i>PEG</i>)	40 μm	BTEX ^b , cloro e nitrofenóis, ftalatos e pesticidas.	[54]
Calix[4]arene	60 μm	Fenóis.	[57]
Éter de coroa - bisbenzo	40 μm	Pesticidas e compostos organofosforados.	[58]
PDMS/poli(vinilalcool) (<i>PDMS/PVA</i>)	5 μm	Bifenilas policloradas (PCB).	[59]
Éter de coroa aberta	55 μm	Fenóis, BTEX ^b e ftalatos.	[51]
Hidroxi-Crown-Éter	73 μm	Fenóis.	[52]
Polifenilmetilsiloxano (<i>PPMS</i>)	70 μm	Pesticidas organoclorados	[60]
Trimetoxisilil-propil-metacrilato (<i>TMSPMA</i>)	70 μm	Compostos voláteis da cerveja.	[61]
Anilina metiltrietoxisilano/PDMS (<i>AMTEOS/PDMS</i>)	85 μm	Compostos aromáticos.	[62]
Butilmetacrilato/divinilbenzeno (<i>BMA/DVB</i>)	70 μm	Compostos voláteis em vinho.	[63]
Hidroxi-fulereno	30 μm	PCB, PAH ^a e aminas aromáticas.	[38]
(Trimetoxisilil propilamina)/PDMS (<i>TMSPA/OH-PDMS</i>)	4 μm	Fenol e clorofenóis em amostras ambientais	[64]
Polimetilfenilsiloxano (<i>PMPS</i>)	70 μm	Pesticidas em vegetais	[65]
Permetilado- β -ciclodextrina/silicone hidroxil terminal (<i>PM-β-CD/OH-TSO</i>)	65-70 μm	Eteres difenilpolibromados (PBDE) em amostras de solo	[66]
Tetra-n-butilortotitanato /grafite (<i>TBOT/grafite</i>)	30 μm	BTEX ^b em amostras gasosas	[67]

^a Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos; ^b benzeno, tolueno, etilbenzeno e xileno.

1.3. Aplicação da liga de NiTi eletroliticamente recoberta com ZrO_2 como novo suporte para SPME

Embora a sílica fundida seja usada amplamente e com sucesso como suporte para fibras de SPME ela possui a desvantagem de ser frágil. O uso de fios metálicos que possuem boa estabilidade mecânica torna a microextração em fase sólida uma técnica de preparação de amostra mais robusta para análise de rotina [68].

Vários trabalhos vêm sendo desenvolvidos usando diferentes materiais em substituição ao suporte tradicional de sílica fundida, tais como: fios de platina [47, 69, 70, 71], fios de alumínio anodizado [42], fios de ouro [46,72], fibras de carbono ativado [73], aço inoxidável [45, 68, 74, 75], fios de titânio [76] e fios de cobre [50].

Recentemente, uma nova geração de fibras de SPME foi introduzida comercialmente pela Supelco. Esta nova fibra, denominada de fibra de metal super elástica, pode ser reutilizada mais que 600 ciclos de extração [77 - 79].

A liga aproximadamente equiatômica de NiTi, conhecida comercialmente como Nitinol[®], destaca-se por seu efeito de memória de forma. Este material é capaz de mostrar o que é comumente chamado de superelasticidade e memória de forma (habilidade de transformação entre fases que permite a recuperação de uma geometria previamente definida mediante imposição de gradiente de tensão e/ou temperatura). A memória de forma da liga de NiTi ou, a habilidade de possuir o comportamento de memória de forma e superelasticidade, estável interação superficial com o ambiente externo, alta biocompatibilidade, excepcional durabilidade e resistência a corrosão são características altamente desejadas [80]. Devido principalmente à última propriedade mecânica abordada, e por ser biocompatível, ou seja, em princípio não oferece danos ao organismo, a liga equiatômica de NiTi está

sendo amplamente usada na confecção de próteses endovasculares para cirurgias minimamente evasivas no tratamento de aneurismas [81].

A eletrodeposição oferece importantes vantagens como rígido controle na espessura do filme formado, uniformidade e taxa de deposição. Este método é especialmente atrativo devido à possibilidade de deposição em substratos de forma complexa, alta pureza de deposição, processo a baixas temperaturas e requer equipamentos de baixo custo [82].

Com relação a recobrimentos com ZrO_2 , excelente biocompatibilidade, resistência à corrosão e ao desgaste, e forte adesão a superfícies metálicas, tem sido reportados [82, 83]. ZrO_2 tem uma notável estabilidade térmica, sendo estável até o seu ponto de fusão a 2983 K. Em acréscimo a temperatura de 2650 K, onde é a fase de transição de t- ZrO_2 a sua fase fluorite cubica (c- ZrO_2), a qual é estável até 2983 K. Zircônia (ZrO_2) é atualmente considerado um das mais importantes materiais cerâmicos na tecnologia moderna [84].

Como proposta de trabalho, as condições ótimas obtidas por Giacomelli, *et al.* [85] para a eletrodeposição do filme de ZrO_2 sobre o Nitinol[®] (estudo do efeito do recobrimento eletrolítico de ZrO_2 no potencial de transpassivação (E_t) dos fios de NiTi destinados à fabricação de próteses endovasculares) serão aplicadas e esta liga eletrodepositada será utilizada como novo suporte para microextração em fase sólida.

Capítulo 2

Estratégias de otimização

O uso da estratégia tradicional de otimização univariada, ou seja, a otimização de cada variável separadamente, oferece como principal vantagem a fácil interpretação de dados obtidos. Os gráficos são bidimensionais, os quais relacionam a resposta analítica com a variável que está sendo otimizada. Entretanto, as interações entre as variáveis não são consideradas durante os experimentos desenvolvidos e o número de experimentos aumenta consideravelmente com o aumento do número de fatores (variáveis). Além disto, somente uma escala muito estreita dentro de todas as combinações possíveis é examinada e isto pode levar a uma condição de falso máximo, ou seja, uma condição onde a combinação entre as variáveis não é a que provê a melhor resposta analítica.

Os planejamentos multivariados permitem um estudo simultâneo de diversas variáveis, sua execução é mais rápida e são economicamente viáveis se comparados aos planejamentos univariados tradicionais [86].

Uma ferramenta multivariada muito utilizada é o planejamento fatorial completo em dois níveis. Este é usado para verificar a significância preliminar das variáveis sobre a resposta no sistema em estudo. Neste procedimento, os efeitos principais e de interação das variáveis no intervalo estudado são estimados, sendo esta uma das maiores vantagens da otimização multivariada. Outra vantagem é a redução do número de experimentos, uma vez que somente dois níveis de cada variável são avaliados. As principais informações obtidas de um planejamento fatorial são os efeitos principais das variáveis e os

efeitos de interação entre as variáveis avaliadas duas a duas (efeitos de segunda ordem). Entretanto, o número de experimentos é dependente do número de variáveis a serem investigadas. Quando o número de variáveis a serem otimizadas é grande, planejamentos fatoriais fracionados podem ser utilizados, onde o número de experimentos é dado por $2^{k-p} + C$, onde k é o número de variáveis, C é o número de replicatas no ponto central e p é um número inteiro que indica o quão fracionado será o planejamento experimental. Quando o valor de p é zero, o planejamento é completo. As variáveis que se mostram estatisticamente significativas podem ser novamente submetidas a um planejamento experimental, porém agora com uma menor diferença entre os níveis, escolhidas de acordo com os resultados do primeiro planejamento, ou otimizadas através de alguma metodologia de superfície de resposta [87].

O planejamento Box-Behnken é baseado em um planejamento fatorial fracionado em três níveis. Para três fatores, por exemplo, o planejamento pode ser construído como três blocos de quatro experimentos consistindo em um planejamento fatorial completo com dois fatores sendo o nível do terceiro fator ajustado como zero. O número de pontos experimentais (N) é definido pela expressão $N = 2k(k-1) + C_0$, onde k é o número de variáveis e C_0 é o número de pontos centrais [86].

Para um planejamento Box-Behnken com três parâmetros (fatores), todos os pontos experimentais estão localizados nas extremidades de um cubo em torno de um ponto central, como mostra a Figura 6a. Baseados nos resultados dos experimentos, um modelo de superfície de resposta pode ser computada, ou seja, uma equação de regressão polinomial que se ajuste aos dados experimentais tanto quanto possível. Essa superfície de resposta pode ser visualizada como uma superfície tridimensional e pode ser utilizada para determinar as condições ótimas de extração [88].

Um planejamento fatorial alternativo muito usado para modelos de segunda ordem é o planejamento proposto por Doehlert em 1970. Planejamento Doehlert é facilmente aplicado a otimização de variáveis e

oferece vantagens em relação ao planejamento Box-Behnken. Este necessita de poucos experimentos, os quais são mais eficientes e podem se mover através do domínio experimental. Apesar destas características atrativas, entretanto, levou algum tempo para que pesquisadores aplicassem o planejamento Doehlert [86].

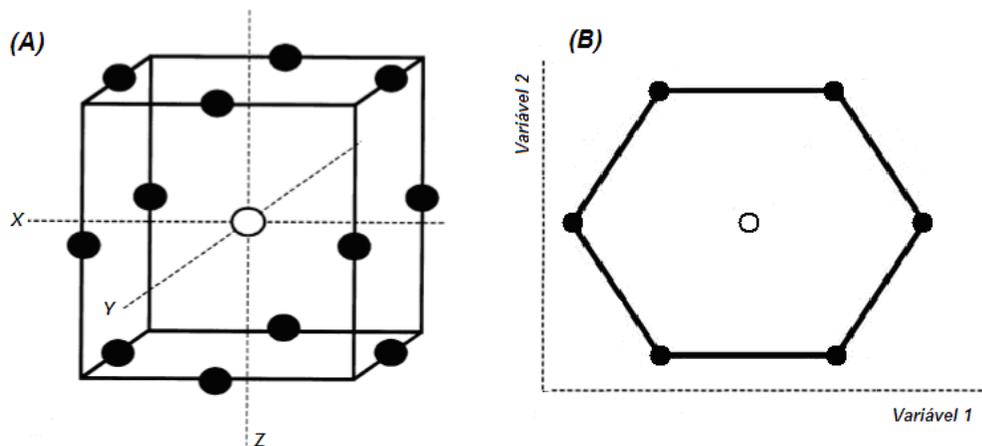


Figura 6. Exemplos de planejamento de otimização. (A) Box-Behnken para três variáveis e (B) Doehlert para duas variáveis.

Para duas variáveis, o planejamento Doehlert consiste de um ponto central mais seis pontos, formando um hexágono regular como demonstrado na Figura 6b. O número de experimentos (N) é dado por $N = k^2 + k + C_0$. Replicatas no nível central das variáveis é avaliado de maneira a validar o modelo por meio de uma estimativa da variância experimental. No planejamento Doehlert o número de níveis não é o mesmo para as duas variáveis, uma variável é estudada em cinco níveis enquanto a outra é estudada somente em três níveis. Como uma regra geral, é preferível escolher a variável com maior efeito como a variável com cinco níveis para obter maior informação do sistema [86].

Para três variáveis usando o planejamento Doehlert, um cuboctaédrico é produzido geometricamente através da distribuição uniforme dos pontos sobre toda a região experimental. Um cuboctaédrico é um sólido geométrico com oito

vértices simetricamente cortado produzindo oito triângulos equiláteros cujas bordas são iguais aquelas dos quadrados restantes. A Figura 7 mostra a projeção no plano do cuboctaédrico.

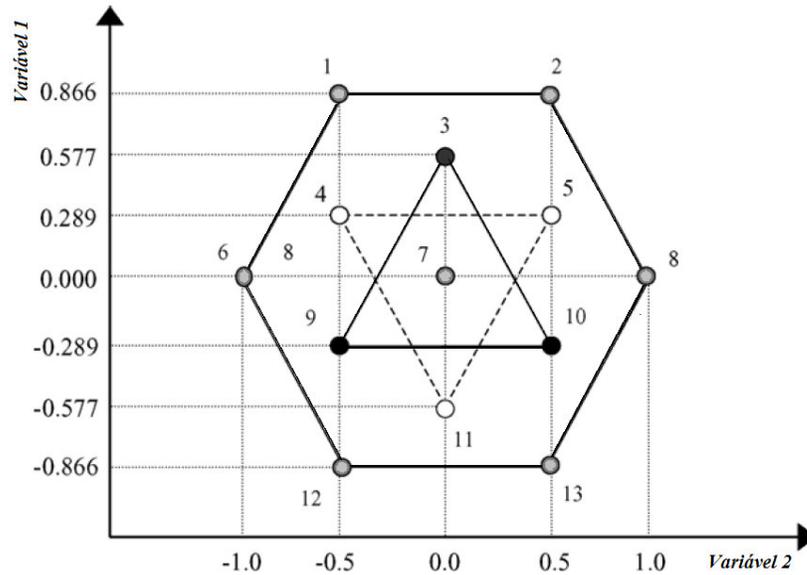


Figura 7. Um cuboctaédrico projetado no plano utilizado na otimização de três variáveis pelo planejamento Doehlert.

A matriz Doehlert teórica que conduz ao planejamento experimental teórico com valores reais pode ser deduzida. A relação entre os valores codificados (C_i) e os valores reais (X_i) é dado por:

$$C_i = [(X_i - X_i^0) / \Delta X_i] \alpha$$

Onde X_i^0 é o valor real no centro do domínio experimental, ΔX_i o grau de variação do valor real e α é igual a 1, 1 e 0,707 para o primeiro, segundo e terceiro fator, respectivamente [89].

Capítulo 3

Preparação e aplicação da liga de NiTi recoberta com ZrO₂ como nova fibra para SPME¹

3.1. Introdução

Alguns materiais vêm sendo propostos em substituição à sílica fundida, suporte tradicionalmente usado em SPME. A aplicação de fios metálicos como suportes pressupõe uma maior robustez a técnica de SPME para análises de rotina. As propriedades vantajosas da liga de NiTi [70], somadas as vantagens dos recobrimentos com óxido de zircônio [82, 83], apresentam-se não só como uma atrativa opção como suporte robusto, mas também como um novo recobrimento extrator para a técnica de microextração em fase sólida.

Neste estudo, é proposta uma nova fibra robusta de SPME obtida pela eletrodeposição de ZrO₂ sobre fios de NiTi. O desempenho e as características desta nova fibra foram avaliados na determinação de alcoóis, BTEX e THM em amostras gasosas.

3.2. Objetivo

Empregar e avaliar o desempenho da liga de NiTi recoberta eletroliticamente com óxido de zircônio como nova fibra robusta para microextração em fase sólida.

¹ Publicado em *Journal of Chromatography A*, 1164 (2007) 18-24

3.3. Parte experimental

✎ Instrumentação

As análises cromatográficas foram realizadas em cromatógrafo a gás modelo Shimadzu GC-14B, equipado com injetor split/splitless. O detector por ionização em chama (FID) foi utilizado na análise de álcoois e BTEX e o detector por captura de elétrons (ECD) foi utilizado na análise de THM. As separações cromatográficas para BTEX e THM foram realizadas em coluna capilar OV-5 (30m x 0,25mm x 0,25 µm; OV Specialty Chemical, Marietta, OH). Para álcoois a separação foi realizada em coluna DB-20 (25m x 0,25mm x 0,25 µm; Shimadzu, Austrália). Nitrogênio ultrapuro foi usado como gás de arraste e auxiliar (make-up). A programação de temperatura do forno para todas as classes estudadas é apresentada na Tabela 3.

Tabela 3 . Programa de temperatura aplicado na separação dos compostos estudados.

Classe	Programação de temperatura do forno
Álcoois	35 °C (4 min); 5 °C min ⁻¹ até 40 °C; 20 °C min ⁻¹ até 150 °C
BTEX	40 °C (1 min); 10 °C min ⁻¹ até 100 °C; 15 °C min ⁻¹ até 190 °C
THM	50 °C (1 min); 10 °C min ⁻¹ até 80 °C; 40 °C min ⁻¹ até 220 °C (1 min)

A temperatura do injetor e detector, para as três classes investigadas foi 270 °C e 280 °C, respectivamente.

Para a deposição do ZrO₂ nos fios de NiTi utilizou-se um potenciostato EG&G PAR modelo 263A. A morfologia e composição das fibras, com e sem recobrimento, foi avaliada por microscopia eletrônica de varredura (SEM) através de microscópio Philips XL-30, e a micro-análise quantitativa por dispersão de energia (EDS).

☞ *Deposição eletrolítica*

Fios da liga de NiTi com 0,3 mm de espessura e aproximadamente 10 cm de comprimento, foram usados como suporte para SPME após a deposição de ZrO₂ em sua superfície. As condições de recobrimento foram seguidas segundo Giacomelli *et al.* [85].

As deposições foram realizadas utilizando-se uma célula eletroquímica convencional de três eletrodos, em soluções naturalmente aeradas de ZrOCl₂.8H₂O (Fluka) 0,0625 mol L⁻¹, pH de 1,8 e temperatura ambiente. O processo foi conduzido usando cronoamperometria. Os fios de NiTi foram previamente lixados (lixa 13 μ) e limpos em acetona. Foi utilizado como eletrodo de trabalho (cátodo) um fio de NiTi. Um cilindro de grafite, previamente lixado, foi utilizado como ânodo e um eletrodo de calomelano saturado (ECS) como eletrodo de referência (ER).

☞ *Reagentes para SPME*

Padrões de álcoois, BTEX e THM foram usados para a extração gasosa em volume de headspace de 340 mL. A mistura de álcoois inclui metanol e etanol (Tedia, Fairfield, Ohio, USA), 1-propanol e 2-propanol (Merck, Darmstadt, Germany), butanol (Vetec, Duque de Caxias, RJ) e hexanol (Sigma-Aldrich, Milwaukee, WI, EUA). Padrão de BTEX consistiu de benzeno, tolueno, etilbenzeno e xileno (Sigma-Aldrich). O padrão de THM incluiu clorofórmio (Tedia), diclorobromometano, clorodibromometano (Sigma-Aldrich) e bromofórmio (Synth, Diadema, SP).

☞ *Preparação das amostras gasosas*

As amostras gasosas foram preparadas adicionando volumes de aproximadamente 1 ou 2 μL da classe de interesse (massa conhecida) em um frasco de 340 mL, para uma total evaporação e diluição proporcional ao volume do frasco.

✎ Estratégias de otimização

A otimização da extração de analitos de amostras gasosas foi realizada pelo método univariado, ou seja, as variáveis foram otimizadas uma a uma enquanto as demais foram fixadas. As classes selecionadas, álcoois, BTEX e THM, foram estudadas separadamente. Os parâmetros avaliados foram temperatura e tempo de extração. Efeito da umidade e uma comparação com fibras comerciais também foram avaliados. As concentrações foram fixadas em 776 µg L⁻¹ para álcoois, 640 µg L⁻¹ para BTEX e 14,6 µg L⁻¹ para clorofórmio e 7,0 µg L⁻¹ para os demais THM.

3.4. Resultados e discussões

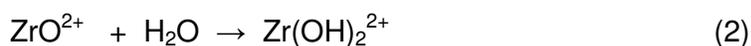
Eletr deposição e caracterização do suporte de NiTi

A síntese catódica eletrolítica de ZrO₂ na superfície do fio metálico envolve a seguinte seqüência de reações químicas:

Dissociação do sal de zircônio



Hidrólise dos íons zircônio



Precipitação com íons OH⁻



Desidratação do hidróxido por secagem natural



A aplicação de um determinado potencial de redução sobre o fio de NiTi (cátodo) gera espécies OH⁻ na sua superfície, o que conduz a uma deposição de Zr(OH)₄, o qual pode, por secagem ao ar perder água, ocorrendo assim a formação do composto cerâmico ZrO₂ [85].

Através das micrografias ilustradas na Figura 8, avaliou-se a superfície da liga de NiTi antes e após a deposição eletrolítica.

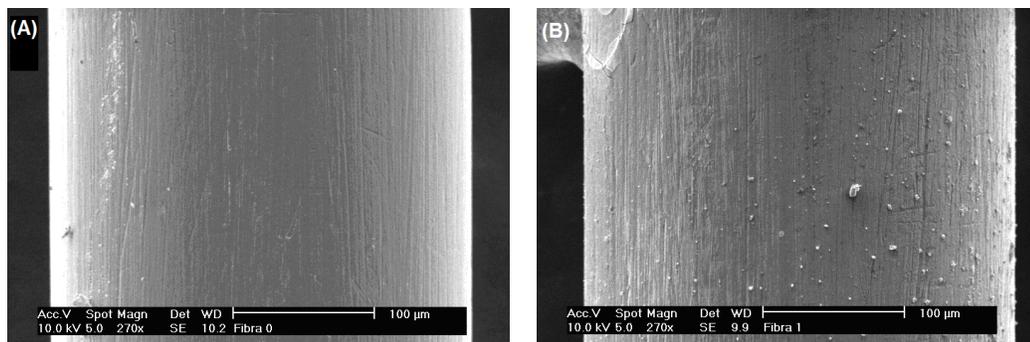


Figura 8. Micrografias da liga de NiTi obtidas por elétron secundário (A) sem o recobrimento e (B) após eletrodeposição de ZrO₂. Ampliação de 270x.

Na Figura 8B, pode-se observar o recobrimento praticamente uniforme da liga por ZrO₂.

A análise química das superfícies da fibra metálica por EDS (Figura 9) confirmou os resultados obtidos por SEM.

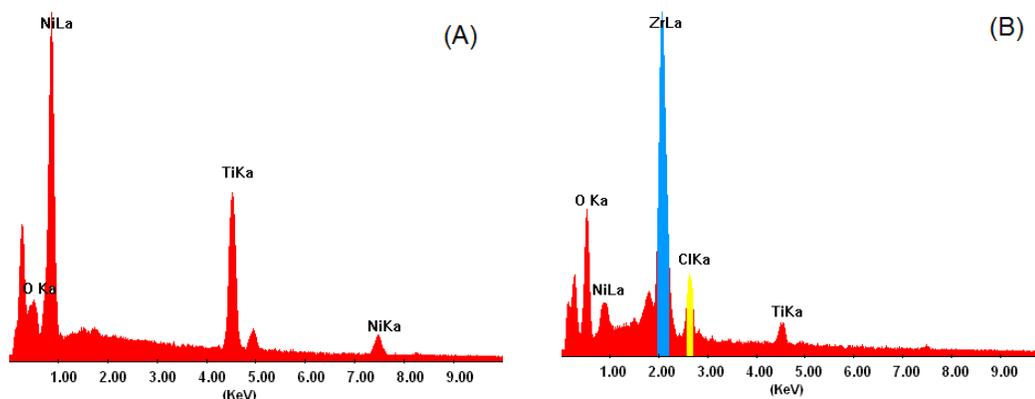


Figura 9. Microanálise por energia dispersiva (EDS). (A) Fibra de NiTi sem recobrimento; (B) fibra de NiTi recoberta com ZrO₂ por eletrodeposição.

O espectro da fibra de NiTi sem revestimento (Figura 9A) revelou basicamente a presença dos picos que correspondem a titânio e níquel,

componentes do suporte. O espectro da fibra com revestimento (Figura 9B) apresentou um pico em 2,0 keV que foi atribuído a linha de emissão L α do zircônio. Este aparecimento ocorreu devido à grande quantidade de zircônio na superfície da fibra metálica. Em 2,5 keV houve um pico atribuído a linha de emissão K α do cloro. Isto se deve ao ZrOCl₂.8H₂O usado na eletrodeposição de ZrO₂.

Aplicação da liga de NiTi com ZrO₂ como nova fibra para SPME

A liga de NiTi, usada aqui como suporte para SPME e eletroliticamente recoberta com ZrO₂, foi aplicada na extração de três classes de compostos orgânicos em amostras gasosas. Os compostos avaliados incluem uma mistura de álcoois: metanol, etanol, 2-propanol, 1-propanol, butanol e hexanol; BTEX: benzeno, tolueno, etilbenzeno e tolueno; e THM: clorofórmio, diclorobromometano, clorodibromometano e bromofórmio.

O método de SPME para ambas as classes de compostos foi otimizado univariadamente, incluindo como variáveis temperatura e tempo de extração.

Temperatura de extração

A faixa de temperatura avaliada foi de 25 a 65°C para álcoois e BTEX e de 25 a 45°C para THM. Em geral, a temperatura da amostra tem uma influência dupla. Altas temperaturas podem aumentar o coeficiente de difusão dos analitos e encurtar o tempo de extração. Também elevadas temperaturas diminuem o coeficiente de partição entre o recobrimento e os analitos, isso porque, o processo de adsorção é geralmente exotérmico. Os perfis das curvas de área de pico versus temperatura podem ser visualizados através da Figura 10.

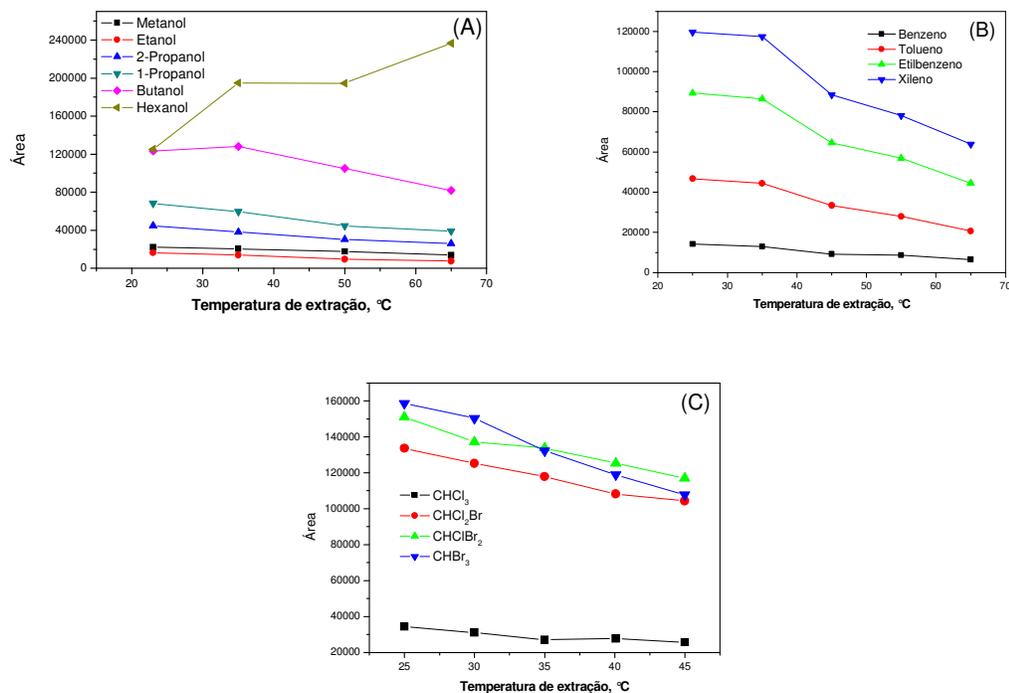


Figura 10. Efeito da temperatura de extração na resposta de 776 $\mu\text{g L}^{-1}$, 640 $\mu\text{g L}^{-1}$ e 7,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ e com tempo de extração de 10, 15 e 20 minutos, para (A) álcoois, (B) BTEX e (C) THM, respectivamente.

Para álcoois, a temperatura selecionada foi 35°C, na qual houve uma pequena queda para 4 dos compostos, mas um ganho significativo para o hexanol e também um pequeno aumento para o butanol. Para BTEX, temperatura da amostra de 25 a 35°C levou apenas a uma pequena queda no sinal, apresentando-se quase como um patamar, e como a estabilização do banho termostatizado é melhor a 35°C esta foi a temperatura escolhida. Como THM apresentou uma queda do sinal analítico para todos os compostos a partir de 25°C, optou-se pelo uso da menor temperatura avaliada.

Tempo de extração

O tempo de extração foi estudado na faixa de 5 a 30 min, 5 a 40 min e 2 a 26 min para álcoois, BTEX e THM, respectivamente. O resultado deste estudo está ilustrado na Figura 11.

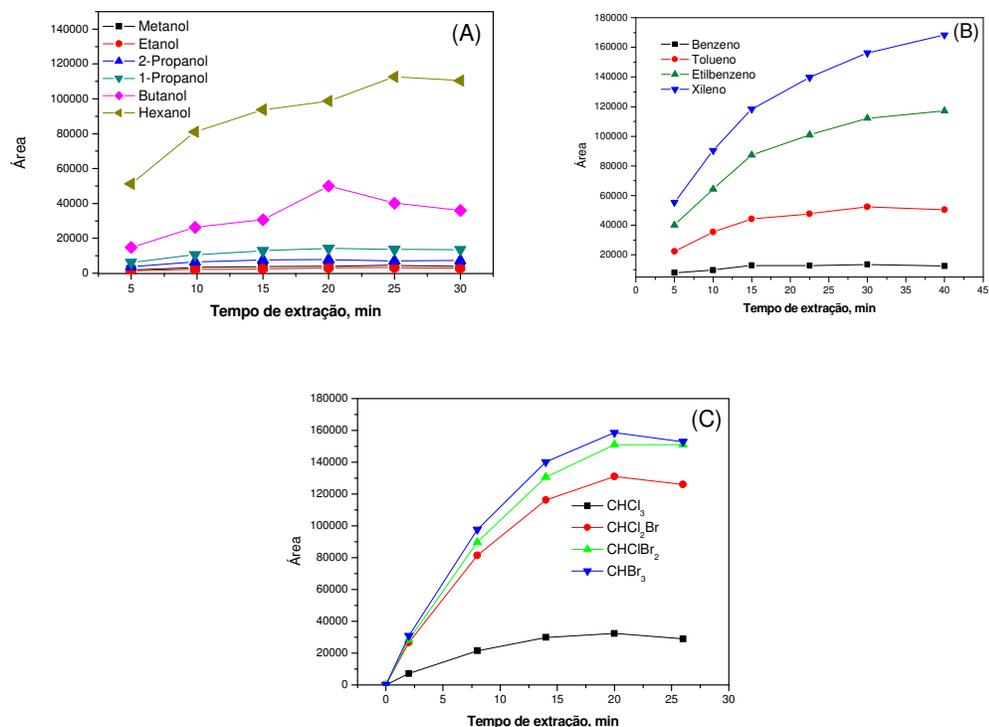


Figura 11. Perfil do tempo de extração para 776 $\mu\text{g L}^{-1}$, 640 $\mu\text{g L}^{-1}$ e 7,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ para (A) álcoois, (B) BTEX e (C) THM.

SPME é uma técnica baseada em equilíbrio e esta tem uma relação direta entre a quantidade extraída e o tempo de extração. Como mostra o perfil de tempo de extração (Figura 11), para as compostos estudados há um claro acréscimo no sinal com o aumento de tempo e não houve necessidade de um tempo de extração maior que 20 minutos para todas as classes estudadas. Mesmo para BTEX que apresentou um pequeno acréscimo acima de 20 minutos (menor que 8%), um tempo de extração de 20 minutos favorece uma maior frequência analítica.

✂ *Efeito da umidade*

Para esta investigação, amostras foram preparadas com o volume de padrão fixado em 5 µL e com a adição de alíquotas de água de 1 a 5 µL, resultando em umidades relativas de 0 a 100%, onde a quantidade extraída foi monitorada por GC. Os dados obtidos podem ser avaliados pela Figura 12.

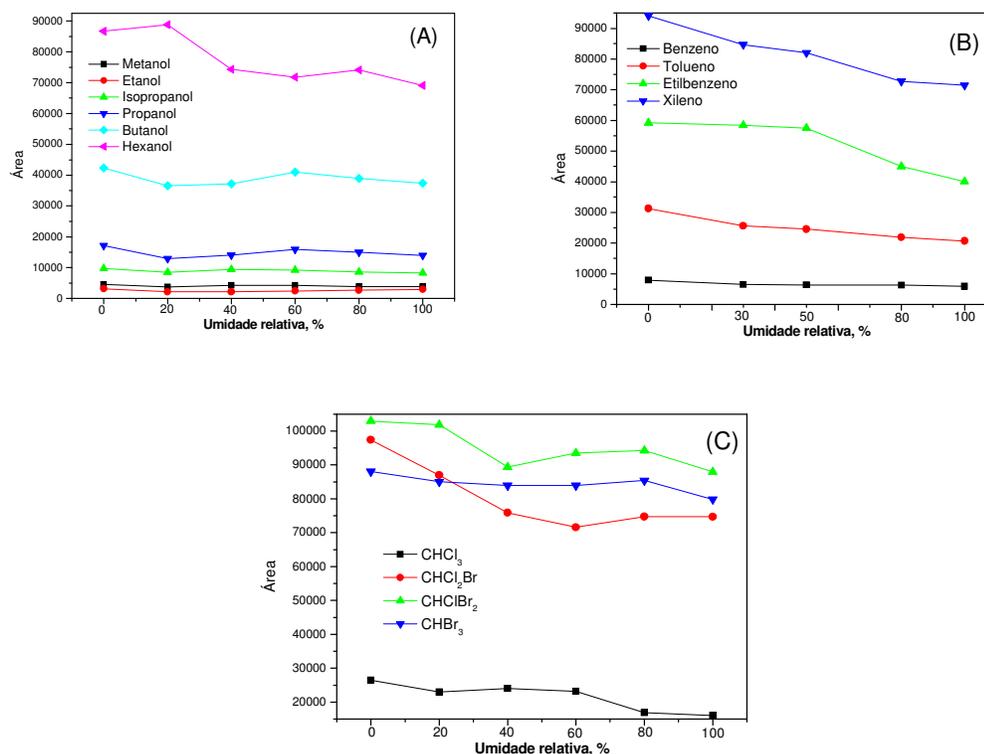


Figura 12. Efeito do vapor de água na extração de amostras gasosas. Fixando o volume de padrão em 5 µL e variando a adição de água de 0 a 5 µL. (A) Álcoois, (B) BTEX e (C) THM.

Pela comparação das áreas de pico, pode-se verificar uma diminuição na eficiência de extração com o aumento da quantidade de água. Para álcoois, 10 - 15% de interferência foi observada para 20 - 100% de umidade relativa, respectivamente. Para BTEX, 29% de interferência pode ser observada para 100% de umidade relativa. Para THM a interferência da água envolveu a faixa de 7 a 20% para umidade relativa de 20 e 100%, respectivamente.

✎ Estudo de repetitividade e reprodutibilidade

De maneira a assegurar repetitividade (para uma fibra) e reprodutibilidade (fibra para fibra), cinco fibras foram recobertas nas mesmas condições e seis experimentos foram realizados com cada fibra. O desvio padrão relativo (RSD%) foi calculado para cada fibra e de fibra para fibra. A repetitividade avaliada para apenas uma fibra foi menor que 8,5%, 6,0% e 8,4% para álcoois, BTEX e THM respectivamente. O RSD avaliando para as três fibras estudadas (ou seja, a reprodutibilidade) foi menor que 11,9%.

✎ Avaliação do desempenho do método proposto

Linearidade, limites de detecção e de quantificação foram obtidos de maneira a avaliar o desempenho do método proposto.

Como podem ser verificados na Tabela 4, os coeficientes de correlação (R) foram maiores que 0,996 para todos os compostos. Os limites de detecção e quantificação foram calculados como três e dez vezes a razão sinal/ruído, respectivamente. Os limites de detecção ficaram na faixa de 9 – 28,1 µg L⁻¹ para as duas primeiras classes de compostos estudadas (Álcoois e BTEX) e 0,02 – 0,18 µg L⁻¹ para THM. Lembrando que THM foi analisado em detector por captura de elétrons (ECD), o qual tem uma sensibilidade muito maior para compostos halogenados que o detector por ionização em chama (FID) utilizado na análise das duas primeiras classes [90].

Tabela 4 . Faixa dinâmica de trabalho, coeficientes de correlação e limites de detecção e quantificação na otimização da fibra ZrO₂ na extração de amostras gasosas.

Compostos	Faixa Linear ^a	R ^b	LD ^c , µg L ⁻¹	LQ ^d , µg L ⁻¹
Alcoois				
Metanol	80 - 970	0,998	28,1	93,6
Etanol	40 - 970	0,999	12,0	40,1
2-propanol	40 - 970	0,998	17,9	59,6
1-propanol	40 - 970	0,999	9,0	29,9
Butanol	40 - 970	0,999	14,4	48,0
Hexanol	30 - 970	0,999	8,2	27,3
BTEX				
Benzeno	70 - 800	0,996	20,5	67,6
Tolueno	70 - 800	0,997	20,8	68,6
etilbenzeno	50 - 800	0,998	15,6	52,1
Xileno	30 - 800	0,997	8,8	29,3
THM				
clorofórmio	1,0 - 20	0,996	0,18	0,59
diclorobromometano	0,5 – 10	0,999	0,02	0,07
bromodiclorometano	0,5 – 10	0,998	0,02	0,06
bromofórmio	0,5 – 10	0,999	0,02	0,08

^a Faixa linear de trabalho em µg L⁻¹; ^b coeficiente de correlação da curva de calibração; ^c limite de detecção; ^d limite de quantificação.

3.5. Conclusões parciais

A fibra de NiTi-ZrO₂ foi eficientemente aplicada na extração de álcoois, BTEX e THM em amostras gasosas. A nova fibra manteve a sua eficiência de extração por mais de 300 extrações. A estabilidade térmica da fibra (suporte e recobrimento) é muito alta. Assim, altas temperaturas de dessorção podem ser aplicadas em comparação com outras fibras comerciais.

Capítulo 4

Aplicação da fibra NiTi-ZrO₂ na determinação de halofenóis em amostras de água²

4.1. Introdução

Os clorofenóis (CP) são conhecidos por serem importantes contaminantes em sistemas aquosos e solos onde são altamente tóxicos, pobremente degradáveis e potencialmente carcinogênicos. Devido a esta toxicidade e aos perigos apresentados a saúde humana a Agência de Proteção ao Meio Ambiente dos Estados Unidos (EPA) tem incluído a maioria deles em sua lista de poluentes prioritários. De acordo com a legislação europeia e americana, a concentração máxima tolerável em água para consumo humano é de 0,5 ng mL⁻¹. Clorofenóis são produzidos comercialmente para uso como agentes preservativos, pesticidas, anti-sépticos e desinfetantes. Eles também são usados como intermediários em várias indústrias, onde a maior fonte de CPs são descargas de efluentes de indústrias tais como de papel e de pesticidas.

Adicionalmente, pequenas quantidades de clorofenóis podem ser produzidas quando água potável ou de descarte são desinfetadas com cloro, conferindo propriedades organolépticas desagradáveis e persistentes [91, 92]. Entre os CP, pentaclorofenol (PCP) e seus sais de sódio têm sido amplamente usados como preservativos de madeira devido seu efeito tóxico sobre bactéria, bolor, alga e fungo [93].

² Publicado em *Analytica Chimica Acta*, 598 (2007) 254-260

Neste trabalho, uma nova fibra de SPME baseada em um suporte de NiTi recoberto eletroliticamente com ZrO₂ foi aplicada na extração de halofenóis em amostras de água de rio, com análise por cromatografia gasosa e detecção por captura de elétrons. A otimização envolveu duas etapas, uma para otimização das condições de derivatização utilizando matriz Doehlert e outra para a otimização das melhores condições de extração aplicando o planejamento Box-Benken.

4.2. *Objetivo*

Avaliar a aplicabilidade da fibra metálica zirconizada na extração de compostos voláteis em amostras aquosas e aplicação a amostras reais.

4.3. *Parte experimental*

Instrumentação

As análises cromatográficas foram realizadas em cromatógrafo a gás modelo Shimadzu GC-14B, equipado com injetor split/splitless com detector por captura de elétrons (ECD). As separações cromatográficas foram realizadas em coluna capilar OV-5 (30m x 0,25mm x 0,25 μm; OV Specialty Chemical, Marietta, OH). Nitrogênio ultrapuro foi usado como gás carreador e auxiliar. A programação de temperatura do forno para halofenóis foi 60 °C (1 min); 20 °C min⁻¹ até 130 °C; 10 °C min⁻¹ até 175 °C (1 min); 1 °C min⁻¹ até 181 °C; 40 °C min⁻¹ até 280 °C (2 min). A temperatura do injetor e detector foi fixada em 270 °C e 280 °C, respectivamente.

Reagentes para SPME

Soluções estoques de halofenóis incluindo 2,4,6-triclorofenol, 2,4,6-tribromofenol e pentaclorofenol (Sigma-Aldrich) foram preparadas pela diluição em acetona (Tedia). As soluções de trabalho foram preparadas pela diluição

das soluções estoque em água deionizada de um sistema Milli-Q (Millipore, Bedford, MA, USA). Carbonato de sódio (Vetec) e anidrido acético (Merck) foram usados nas etapas de derivatização dos halofenóis. Cloreto de sódio (Nuclear, Diadema, SP) foi utilizado para aumentar a força iônica das soluções aquosas.

✎ *Preparação das amostras reais*

As amostras de água foram coletadas do Rio Ponte Grande (Lages, SC, Brasil), o qual recebe aporte de efluentes de várias manufaturas de madeiras. As amostras foram coletadas em frascos de vidro com tampa esmerilhada recoberta com papel alumínio e acondicionadas a 4°C até o momento da análise.

✎ *Estratégias de otimização*

Para a avaliação do desempenho da fibra de NiTi-ZrO₂ na extração de analitos de amostras aquosas, uma otimização multivariada foi aplicada. Para a determinação das melhores condições de derivatização de halofenóis aplicou-se o planejamento Doehlert, sendo volume de carbonato de sódio saturado e de anidrido acético avaliados. O volume de anidrido acético foi avaliado em cinco níveis: 50, 88, 125, 163 e 200 µL e o volume de carbonato de sódio foi estudado em três níveis: 300, 450 e 600 µL. As variáveis de extração como temperatura (45°C) e tempo de extração (20 min), massa de NaCl (4 g), tempo de pré-equilíbrio (5 min), tempo e temperatura de dessorção (5 min e 270°C) foram fixadas. O planejamento Box-Behnken foi aplicado para avaliar os três principais fatores que afetam o processo de extração por SPME a fim de se obter as condições ótimas. Os parâmetros experimentais estudados foram temperatura de extração (35, 45 e 55°C), tempo de extração (2, 9 e 16 min) e força iônica pela adição de sal (1, 4 e 7 g de NaCl).

Os volumes de anidrido e carbonato foram fixados de acordo com os volumes ótimos obtidos pelo planejamento Doehlert. As concentrações

também foram fixadas durante as etapas de otimização sendo 5,0 µg L⁻¹ para TCP; 6,7 µg L⁻¹ para TBP e 9,2 µg L⁻¹ para PCP. Todas as análises foram realizadas em frascos de 40 mL com 20 mL de amostra, amostragem a partir do headspace da amostra e agitação magnética constante.

4.4. Resultados e discussões

Derivatização

Derivatização deve ser usada quando compostos muito polares devem ser determinados, os quais geralmente são difíceis de extrair de matrizes ambientais ou biológicas, além de serem de difícil separação na coluna cromatográfica [94]. A derivatização é um modo de reduzir a polaridade de compostos polares e melhorar a eficiência de extração, mas a adição da etapa de derivatização pode ter um impacto negativo no transporte dos analitos para o headspace devido ao aumento da massa molar [95, 96].

A Figura 13 ilustra a reação de derivatização de triclorofenol na presença de anidrido acético e carbonato de sódio. A reação ocorre em meio alcalino promovido pelo íon carbonato. O triclorofenol ataca o grupo carbonila do anidrido acético formando o fenil acetato e liberando ácido acético. O ácido acético é desprotonado, permanecendo no meio como acetato.

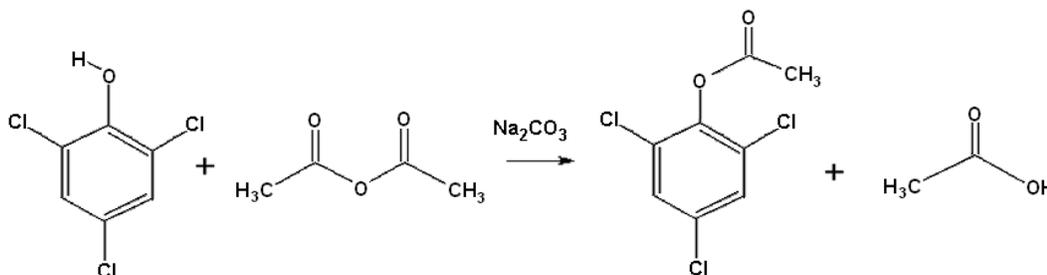


Figura 13. Reação de derivatização de triclorofenol na presença de anidrido acético e carbonato de sódio.

As variáveis de derivatização (volumes de anidrido acético e solução aquosa saturada com carbonato de sódio) foram otimizadas pelo planejamento

Doehlert. O volume de anidrido acético, considerado a variável mais importante por se tratar do agente derivatizante, foi otimizado em cinco níveis. O volume de carbonato foi avaliado em três níveis.

A partir das respostas cromatográficas foi calculada a média geométrica, a fim de se obter um compromisso entre as respostas para os três compostos. A superfície de resposta obtida é apresentada na Figura 14.

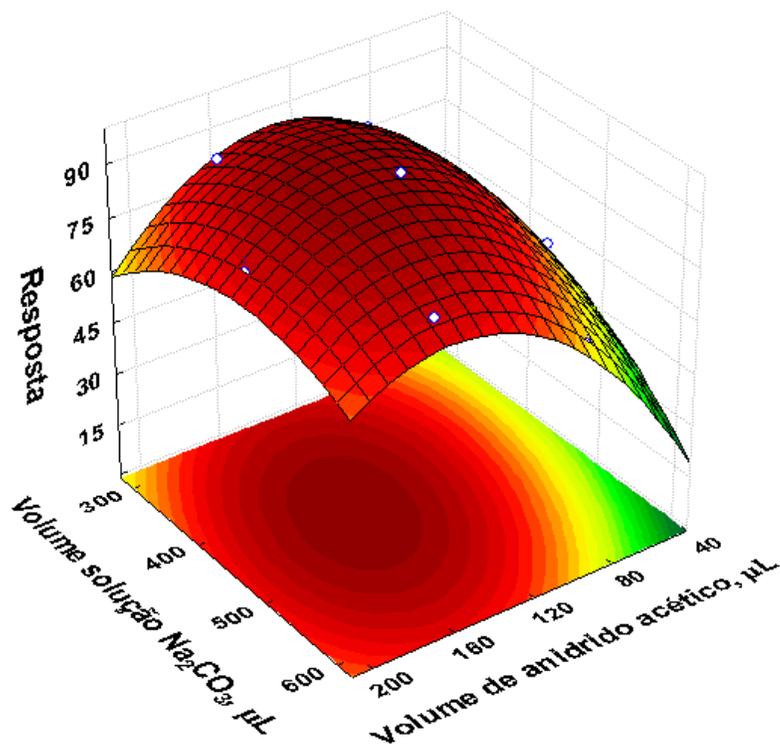


Figura 14. Superfície de resposta obtida na otimização das condições de derivatização para halofenóis.

A partir da superfície de resposta foi possível calcular os pontos de máximo através da seguinte equação:

$$R = -36,583 + 0,868x + 0,321y - 0,004x^2 + 7,749 \cdot 10^{-4}xy - 4,951 \cdot 10^{-4}y^2$$

através das derivadas parciais obtêm-se os pontos críticos da função:

$$\begin{aligned}\partial R/\partial x &= 0,868 - 0,008x + 7,749 \cdot 10^{-4}y = 0 \\ \partial R/\partial y &= 0,321 + 7,749 \cdot 10^{-4}x - 9,902 \cdot 10^{-4}y = 0 \\ x &= 156 \mu\text{L} \text{ e } y = 492 \mu\text{L}\end{aligned}$$

onde, R é a média geométrica da área cromatográfica, x é o volume de anidrido e y o volume de carbonato.

Para confirmar se esses valores correspondem a valores de máximo, aplicou-se o critério de Lagrange, o qual é usado para checar a existência de pontos críticos em funções de segunda ordem estimadas com a matriz Doehlert e no cálculo do determinante de Hessian baseado na função resposta:

$$\begin{aligned}H(x,y) &= (\partial^2 R/\partial x^2) (\partial^2 R/\partial y^2) - (\partial^2 R/\partial x \partial y)^2 \\ (\partial^2 R/\partial x^2) &= -0,008 \\ (\partial^2 R/\partial y^2) &= -9,902 \cdot 10^{-4} \\ (\partial^2 R/\partial x \partial y) &= 7,749 \cdot 10^{-4} \\ H(x,y) &= (-0,008) \cdot (-9,902 \cdot 10^{-4}) - (7,749 \cdot 10^{-4})^2 \\ H(x,y) &= 7,3 \cdot 10^{-6}\end{aligned}$$

O ponto crítico é máximo se $H(x_0, y_0) > 0$ e $\partial^2 R/\partial x^2(x_0, y_0) < 0$, é mínimo se $H(x_0, y_0) < 0$ e $\partial^2 R/\partial x^2(x_0, y_0) > 0$ [97]. O ponto de sela existe se $H(x_0, y_0) < 0$. De acordo com o valor obtido para $H(x, y) > 0$ pode-se afirmar que o ponto crítico é um ponto de máximo.

O carbonato de sódio age como catalisador desprotonando os fenóis e tornando mais rápida a reação deste com o anidrido acético. Contudo, uma grande quantidade de carbonato pode hidrolisar o anidrido antes que ele possa reagir com o fenol. Pequenas quantidades de anidrido podem não ser suficientes para reagir completamente com os analitos. Grandes quantidades podem, entretanto, tornar o pH da solução muito ácido desfavorecendo a desprotonação dos fenóis e conseqüentemente a eficiência de derivatização.

Assim, o máximo fornecido pela superfície de resposta fornece esse compromisso entre as duas variáveis.

✎ *Otimização do processo de extração*

As variáveis de extração (temperatura, tempo e força iônica) foram otimizadas pelo planejamento Box-Behnken. As variáveis envolveram 35, 45 e 55 °C para temperatura, 2, 9 e 16 minutos para tempo e 1, 4 e 7 g de NaCl. A partir dos dados obtidos experimentalmente três superfícies de resposta foram plotadas pela combinação das três variáveis.

As relações entre as variáveis são dadas pela equação:

$$R = -70,3737 + 1,4611x - 0,0066x^2 + 17,6257z - 1,5145z^2 + 1,8830y - 0,3319y^2 + 0,0068xz + 0,1268xy + 0,0190zy$$

através das derivadas parciais obtém-se os pontos críticos da função:

$$\partial R/\partial x = 1,4611 - 0,0132x + 0,0068z + 0,1268y = 0$$

$$\partial R/\partial y = 1,8830 - 0,6638y + 0,1268x + 0,0190z = 0$$

$$\partial R/\partial z = 17,6257 - 3,029z + 0,0068x + 0,0190y = 0$$

$$x = -171,203, y = -29,711 \text{ e } z = 5,245$$

onde x, y e z correspondem as variáveis temperatura, tempo e massa de NaCl respectivamente.

A partir dos dados obtidos como pontos críticos, pode-se ter uma idéia de que esses valores não correspondem a valores de máximo. Uma confirmação pode ser feita pela aplicação do critério de Lagrange.

O critério de Lagrange é usado de maneira a caracterizar a função resposta e estabelecer a derivada segunda desta função de maneira a avaliar

o ponto crítico (x_c, y_c, z_c). A equação quadrática mostra somente um ponto crítico, onde quatro situações são possíveis.

- i. Não há nenhuma informação: $\Delta_2 = 0$.
- ii. Máximo relativo: $\Delta_1 < 0$; $\Delta_2 > 0$; $\Delta_3 < 0$.
- iii. Mínimo relativo: $\Delta_1 > 0$; $\Delta_2 > 0$; $\Delta_3 > 0$.
- iv. ponto de sela: nenhuma das situações acima citadas.

Ponto de sela é definido como um ponto crítico de uma superfície de resposta, que apresenta uma resposta de máximo para níveis de algumas variáveis e simultaneamente resposta de mínimo para níveis de outras variáveis estudadas no sistema analítico.

Os determinantes de Hessian (Δ_3) de uma função $H(x, y, z)$, (Δ_1) e (Δ_2) são calculados usando as seguintes fórmulas [98]:

$$\Delta_3 = \begin{bmatrix} \frac{\delta^2 R}{\delta x^2} & \frac{\delta^2 R}{\delta y \delta x} & \frac{\delta^2 R}{\delta z \delta x} \\ \frac{\delta^2 R}{\delta x \delta y} & \frac{\delta^2 R}{\delta y^2} & \frac{\delta^2 R}{\delta z \delta y} \\ \frac{\delta^2 R}{\delta x \delta z} & \frac{\delta^2 R}{\delta y \delta z} & \frac{\delta^2 R}{\delta z^2} \end{bmatrix} \quad \Delta_2 = \begin{bmatrix} \frac{\delta^2 R}{\delta x^2} & \frac{\delta^2 R}{\delta y \delta x} \\ \frac{\delta^2 R}{\delta x \delta y} & \frac{\delta^2 R}{\delta y^2} \end{bmatrix}$$

$$\Delta_1 = \frac{\delta^2 R}{\delta x^2}$$

A aplicação do critério de Lagrange para a equação obtida experimentalmente demonstrou que:

$$\Delta_1 = -0,0132 \ ; \ \Delta_2 = -7,32 \cdot 10^{-3} \ ; \ \Delta_3 = 0,0222$$

Os valores de $\Delta_1 < 0$, $\Delta_2 < 0$ e $\Delta_3 > 0$, demonstram que o ponto crítico apresentado pela equação não corresponde a um ponto de máximo e sim a um ponto de sela. Assim, a escolha das variáveis que fornecem uma maior resposta foi feita visualmente através das superfícies de resposta apresentadas na Figura 15.

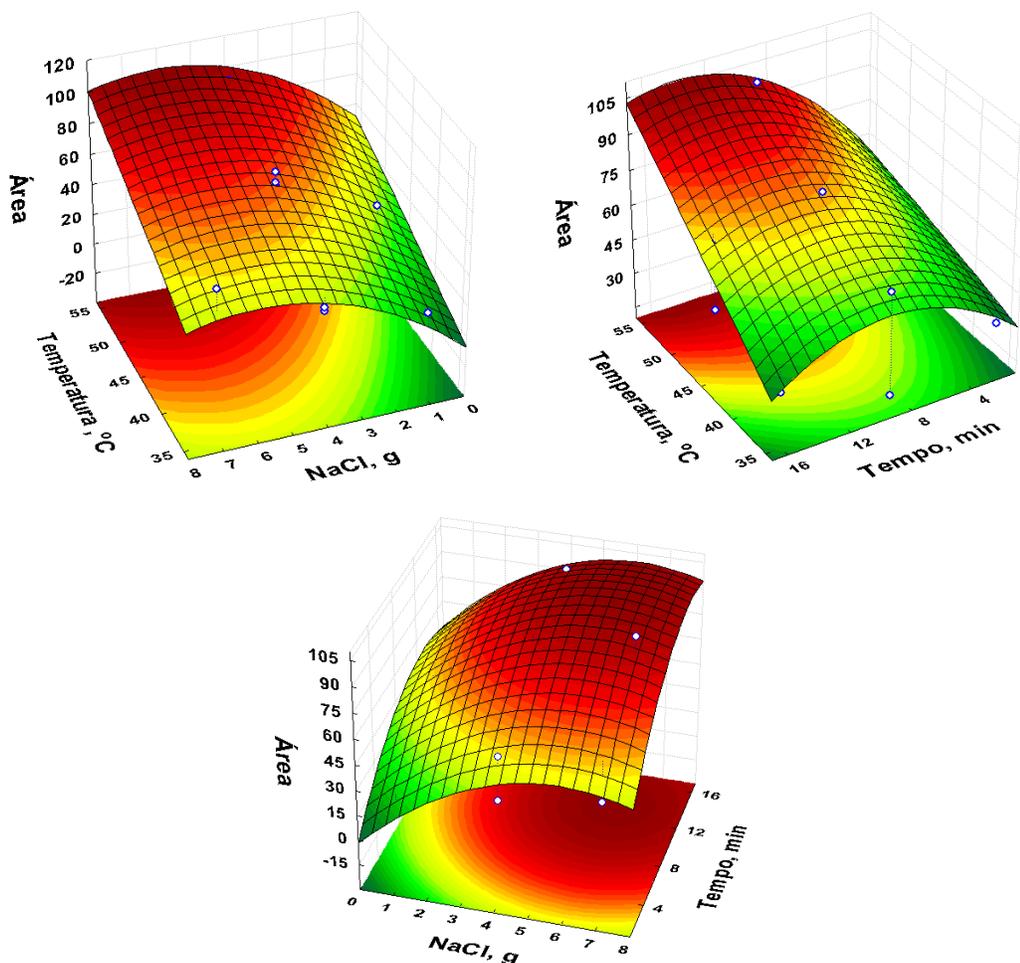


Figura 15. Superfícies de resposta obtidas na otimização das condições de extração para halofenóis a partir do planejamento Box-Behnken.

As superfícies da Figura 15 mostram claramente um aumento na resposta analítica com o aumento da temperatura, aumento do tempo de extração e maior concentração de sal. Assim, as condições experimentais

estabelecidas foram: 55°C para a temperatura, 14 minutos de extração e 6 g de NaCl.

✎ *Avaliação do desempenho do método proposto*

Para avaliar a linearidade do método, estudos de calibração foram realizados usando as condições previamente otimizadas. Os resultados obtidos a partir da calibração estão representados na Tabela 5. As faixas de concentrações aplicadas foram 0,5 - 25,0 µg L⁻¹, 0,7 – 25,0 µg L⁻¹ e 0,9 – 30,0 µg L⁻¹ para TCP, TBP e PCP, respectivamente.

Tabela 5. Faixa dinâmica de trabalho, coeficientes de correlação e limites de detecção e quantificação na otimização da fibra ZrO₂ na extração de halofenóis em água.

Compostos	Faixa linear ^a	R ^b	LD ^c , µg L ⁻¹	LQ ^d , µg L ⁻¹
TCP	0,5 – 25,0	0,998	0,28	0,93
TBP	0,7 – 25,0	0,998	0,21	0,71
PCP	0,9 – 30,0	0,997	0,30	1,00

^a faixa linear de trabalho; ^b Coeficiente de correlação da curva de calibração; ^c limite de detecção; ^d limite de quantificação.

Como pode ser verificado na Tabela 5, os coeficientes de correlação para os halofenóis foram melhores que 0,997. Baixos limites de detecção foram obtidos, estando abaixo dos valores máximos de concentração permitidos pelas legislações europeia e americana [91, 92].

A repetitividade da fibra de NiTi-ZrO₂ também foi avaliada na extração dos halofenóis. O desvio padrão relativo (RSD%), foi calculado para seis extrações consecutivas com concentração de 1,0 µg L⁻¹ e condições de extração fixadas de acordo com a otimização. Os valores de RSD envolveram a faixa de 9,9 – 12,5%.

✎ *Aplicação da metodologia proposta para amostras de água de rio*

A metodologia usando a nova fibra de SPME foi aplicada na determinação de halofenóis em três amostras de água coletadas no Rio Ponte Grande (Lages, Santa Catarina, Brasil). A exatidão foi avaliada usando o procedimento de adição de padrão. As inclinações da curva de calibração externa e a curva com adição de padrão para cada amostra foram comparadas, e a sensibilidade relativa foi calculada. Os valores obtidos de sensibilidade relativa foram considerados satisfatórios para as três amostras, indicando que a matriz da amostra não causa interferência na metodologia, e a calibração externa pode ser eficientemente usada em análises quantitativas. Os resultados podem ser observados na Tabela 6.

Tabela 6 . Concentração encontrada e sensibilidade relativa usando curvas de calibração externa e com adição de padrão.

	Conc. encontrada ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Sensibilidade relativa (%)
Amostra 1		
TCP	1,0 ± 0,1	84,0
TBP	< LD ^a	81,2
PCP	1,5 ± 0,2	86,2
Amostra 2		
TCP	< LD ^a	112,2
TBP	< LD ^a	88,6
PCP	1,3 ± 0,3	86,0
Amostra 3		
TCP	1,2 ± 0,2	105,0
TBP	0,9 ± 0,2	90,7
PCP	1,4 ± 0,1	82,7

^a abaixo do limite de detecção do método.

Como pode ser visualizado na Tabela 6, PCP foi encontrado nas três amostras analisadas, TCP foi encontrado nas amostras 1 e 3, e TBP somente na amostra 3.

4.5. Conclusões parciais

A nova fibra de SPME empregando NiTi como suporte para recobrimentos eletrolíticos com ZrO₂ foi eficientemente aplicada na extração de halofenóis em amostras aquosas. A eficiência da fibra foi mantida por mais de 500 extrações.

Capítulo 5

Aplicação da fibra de NiTi-ZrO₂ na determinação de haloanisóis em amostras de vinho ³

5.1. Introdução

A qualidade do vinho é altamente dependente de seu aroma. Assim, é muito importante evitar a presença dos compostos que causam defeitos organolépticos ao vinho. O principal responsável por este defeito organoléptico é o 2,4,6-tricloroanisol (TCA), embora outros compostos possam também estar envolvidos como os outros cloroanisols, e mesmo 2,4,6-tribromoanisol (TBA) [99 - 102] e o pentacloroanisol (PCA) também pode contribuir para este efeito [103].

O TBA é produzido pela *o*-metilação de seu precursor direto 2,4,6-tribromofenol, que está presente nos implementos do vinhedo ou na atmosfera [104, 105]. A aplicação de pesticidas clorados em florestas de carvalho e o uso do 2,4,6-tribromofenol como retardador de chama pode também contribuir à presença de haloanisóis em ambientes de adegas de vinho, com conseqüente risco de contaminação no vinho [106].

O odor do TCA, descrito como mofo, pode ser detectado mesmo em baixas concentrações; seu limite sensorial de percepção está na faixa de 10 a 40 ng L⁻¹ [107, 108]. Levando em conta que a concentração de haloanisóis

³ Publicado em *Microchimica Acta*, 164 (2009) 197-202

usualmente encontrada em vinhos está em níveis de ng L⁻¹, faz-se necessário a aplicação de técnicas de pré-concentração antes da determinação analítica.

5.2. Objetivo

Verificar e ampliar a aplicabilidade da fibra de NiTi zirconizada na extração de haloanisóis em uma matriz complexa como o vinho tinto, realizando a etapa de otimização a partir de ferramentas quimiométricas.

5.3. Parte experimental

✎ Instrumentação

As condições cromatográficas são iguais às aplicadas na análise de halofenóis em amostras aquosas⁴, descritas no capítulo 5.

✎ Reagentes para SPME

Padrões de haloanisóis, 2,4,6-tricloroanisol, 2,4,6-tribromoanisol e pentacloroanisol (Sigma-Aldrich, Milwaukee, WI, EUA) foram preparados em acetona grau HPLC (Tedia, Fairfield, OH, USA). Cloreto de sódio (Nuclear, Diadema, SP) foi utilizado para aumentar a força iônica.

✎ Preparação da amostra sintética de vinho

Como amostra sintética de vinho, uma solução contendo etanol (Dinâmica, São Paulo, Brazil) 11% (v/v), ácido tartárico (Merck) 0,25% (m/v), ácido láctico 0,30% (m/v) (Reagen, Rio de Janeiro, Brazil) e glicerina 0,60% (m/v) (Nuclear, Diadema, São Paulo) foi preparada. O pH desta solução ajustado em 3,5 com uma solução de hidróxido de sódio (Vetec, Rio de

⁴ Ver Capítulo 4

Janeiro, Brasil).

✎ *Estratégias de otimização*

Um planejamento fatorial completo foi usado para avaliar as significâncias preliminares das variáveis, assim como as interações entre as mesmas. As variáveis foram investigadas em dois níveis, incluindo temperatura de extração (35 e 65 °C), tempo de extração (10 e 30 min), pH da amostra (3,2 e 7,6) e força iônica pela adição de cloreto de sódio (0 e 6 g). Quatro replicatas no ponto central foram incluídas no planejamento. De acordo com os resultados obtidos pelo planejamento fatorial, um planejamento Doehlert foi aplicado para estudar três variáveis (fatores). A variável força iônica foi estudada em sete níveis (2,00; 2,65; 3,35; 4,00; 4,67 e 6,00 g de NaCl), a temperatura de extração em cinco níveis (35, 40, 45, 50 e 55 °C) e o tempo de extração em três níveis (20, 30 e 40 min). Para avaliar a robustez do método um novo planejamento fatorial completo foi realizado.

Todas as análises foram realizadas em frascos de 40 mL, com 20 mL de amostra, agitação magnética constante e com amostragem a partir do headspace da amostra. A otimização foi realizada com uma solução contendo 500 ng L⁻¹ de cada analito.

5.4. Resultados e discussões

Como se deseja maximizar a quantidade extraída dos três analitos simultaneamente, somente uma resposta foi utilizada, a qual foi obtida pela média geométrica das três áreas cromatográficas. Com a média geométrica obtida, construiu-se o gráfico de Pareto mostrado na Figura 16.

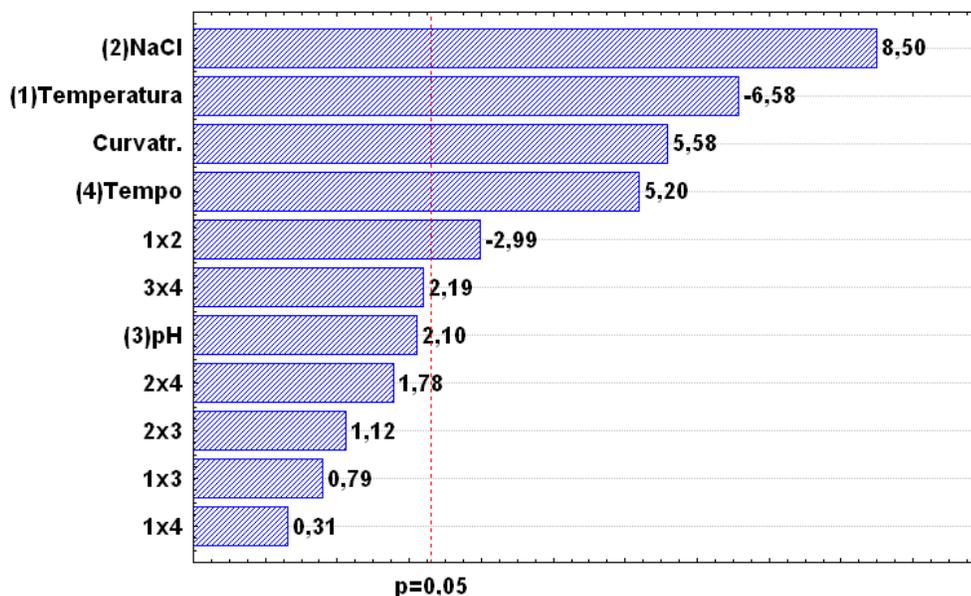


Figura 16. Gráfico de Pareto obtido pelo planejamento fatorial completo na otimização das variáveis e suas interações na determinação de haloanisóis em vinho tinto.

No planejamento fatorial mostrado na Figura 16, foram inclusos pontos centrais em quatro replicatas os quais permitem que seja realizada uma checagem na curvatura, a fim de se avaliar a perda de linearidade da resposta analítica entre os níveis mínimo e máximo avaliados. Como já se esperava, o efeito da força iônica é extremamente significativo ao sistema. Valores negativos de curvatura indicam que a resposta no ponto central é mais baixa em relação aos níveis mínimos e máximos. Uma curvatura positiva indica uma maior resposta no ponto central em comparação com os níveis mínimos e máximos. Neste caso, o sinal da curvatura foi grandemente influenciado pelo efeito mais significativo indicado pelo gráfico de Pareto (efeito *salting-out*).

O aumento da força iônica diminui a solubilidade dos analitos na solução favorecendo a sua constante de partição entre a amostra e seu headspace. O nível máximo da força iônica avaliada (6 g de cloreto de sódio em 20 mL de amostra de vinho) é próximo à saturação da solução, seria uma alternativa coerente fixar esta variável em seu nível máximo. Entretanto, como a curvatura mostrou-se significativa e positiva, pode ser que o nível máximo de

concentração de cloreto de sódio não forneça a melhor resposta, lembrando que as variáveis mais significativas em um sistema são as que mais influenciam na curvatura. Levando isso em consideração, o valor ótimo deve estar localizado entre o ponto central e o máximo nível estudado (3 e 6 g). A temperatura de extração foi avaliada nos níveis 35 e 65°C. A temperatura também se mostrou significativa, mas ao contrário do efeito da força iônica, a extração no nível mínimo (35°C) é melhor que a extração a 65°C, como indicado pelo sinal negativo no gráfico de Pareto. O objetivo de se avaliar diferentes temperaturas de extração é favorecer a transferência dos analitos da fase líquida para a fase gasosa, conseqüentemente favorecer uma maior eficiência de extração. Entretanto, o processo de sorção é exotérmico; assim, altas temperaturas podem favorecer a liberação dos compostos para a fase gás, mas desfavorecer a extração dos compostos pela fibra. Neste caso o efeito cinético (pelo aumento da temperatura) não se sobrepôs ao efeito termodinâmico (aumento do coeficiente de partição pela diminuição da temperatura) nos níveis estudados.

O tempo de extração também apresenta um efeito positivo na eficiência de extração indicando que na média, 30 minutos de extração conduz em uma maior resposta em comparação a 10 minutos. Pode-se observar ainda que há um efeito antagônico de interação entre a força iônica e a temperatura de extração. Considerando os sinais algébricos dos efeitos principais das variáveis individuais, pode-se dizer que com o aumento da força iônica concomitantemente a uma diminuição da temperatura leva a um aumento na resposta analítica. A única variável que não apresentou grande influência foi o pH da amostra, o qual foi fixado para estudos posteriores em seu ponto central (pH 5,4). Os haloanisóis não têm nenhum grupo ácido ou básico em sua estrutura e por isso o pH da amostra pode não ter uma influência direta na eficiência de extração. O objetivo era, de fato, investigar se em elevados valores de pH da amostra haveria uma maior liberação dos analitos da matriz complexa do vinho, através de uma baixa interação entre os componentes do vinho carregados negativamente e os haloanisóis. Embora tal efeito seja

observado (valor positivo do efeito principal do pH da amostra), o resultado não é estatisticamente significativo.

Para uma otimização mais apurada uma metodologia por superfície de resposta foi aplicada na qual força iônica, temperatura e tempo de extração foram simultaneamente otimizados. Foi utilizada a matriz Doehlert para três variáveis onde as mesmas são estudadas em diferentes níveis (7, 5 e 3) ordenadas de acordo com a significância das mesmas, força iônica estudada em sete níveis, temperatura em cinco e tempo em três níveis. Novamente a média geométrica é utilizada como resposta e a combinação das variáveis duas a duas gera três superfícies ilustradas pela Figura 17.

A partir das derivadas parciais da equação da superfície:

$$R = - 868363 + 297311x - 42435x^2 + 89757y - 1463y^2 - 11736z - 321z^2 - 743yx + 636xz + 720yz,$$

Foi calculado o ponto crítico da função: $x = 3,4$, $y = 36,1$ e $z = 25,6$, sendo que R , x , y e z correspondem a resposta, força iônica (g), temperatura (°C) e tempo (min) de extração respectivamente.

Os valores ótimos obtidos pela superfície de resposta confirmam a tendência observada anteriormente pelo planejamento fatorial. Ou seja, melhores respostas em temperaturas em torno de 35°C, tempo de extração de 20 a 30 minutos e a força iônica próxima ao ponto central do planejamento fatorial confirmando que a curvatura sofre uma grande influência por esta variável.

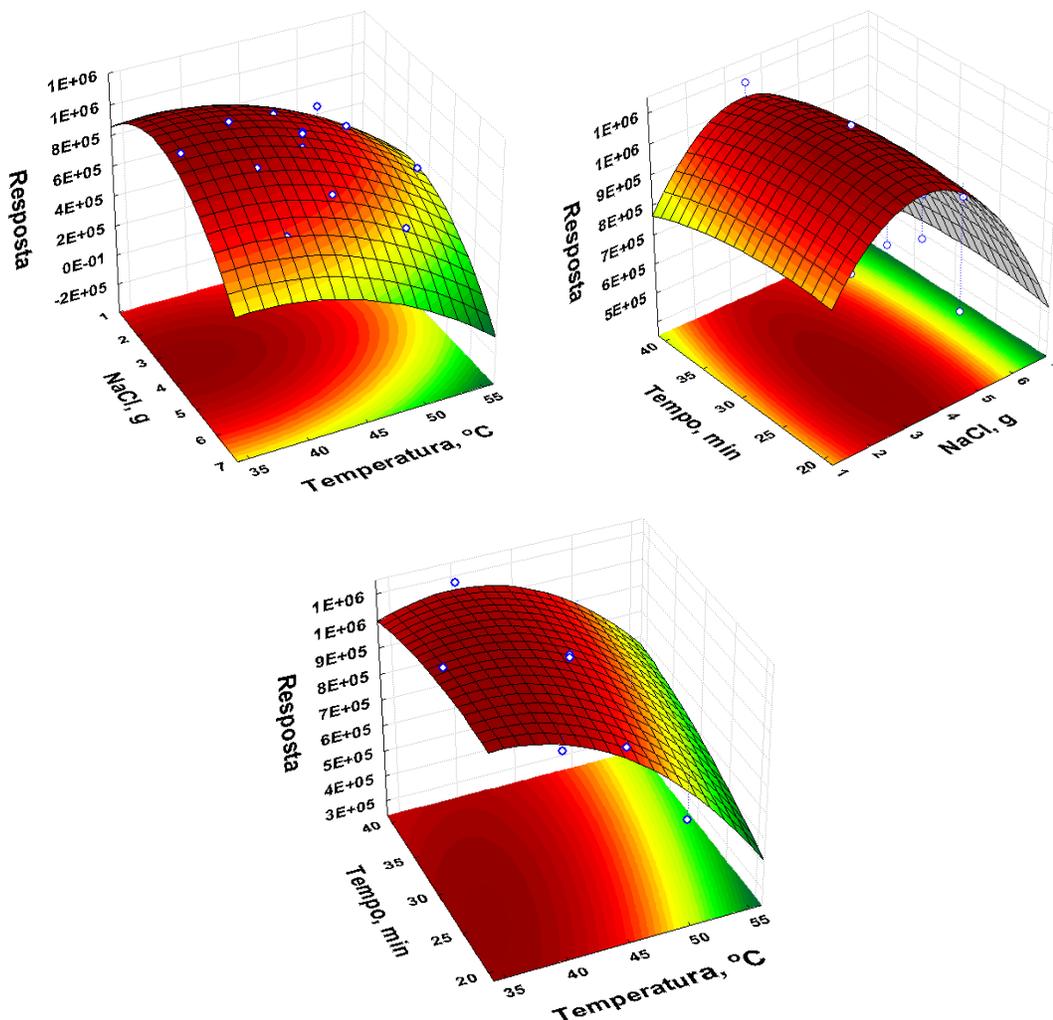


Figura 17. Superfícies de resposta geradas a partir da matriz Doehlert para três variáveis na determinação de haloanisóis em vinho tinto.

O coeficiente de correlação (r) entre os valores previstos pelo modelo matemático e os valores experimentalmente observados foi de 0,9726, demonstrando que o modelo prevê com satisfatória exatidão os valores experimentais.

✂ *Avaliação do desempenho do método proposto*

A partir dos resultados ótimos obtidos pela superfície de resposta, foram investigados os parâmetros analíticos de mérito. Intervalos de robustez para as

variáveis força iônica, temperatura e tempo de extração foram investigados através de um planejamento fatorial completo incluindo ponto central em triplicata. O valor ótimo de cada variável foi tomado como ponto central para este planejamento e os valores mínimos e máximo foram pequenos intervalos igualmente espaçados acima e abaixo do ponto central. Os níveis selecionados foram 2,9 e 3,9 g de NaCl para força iônica, 32 e 40°C para temperatura e 20 e 32 minutos para tempo de extração.

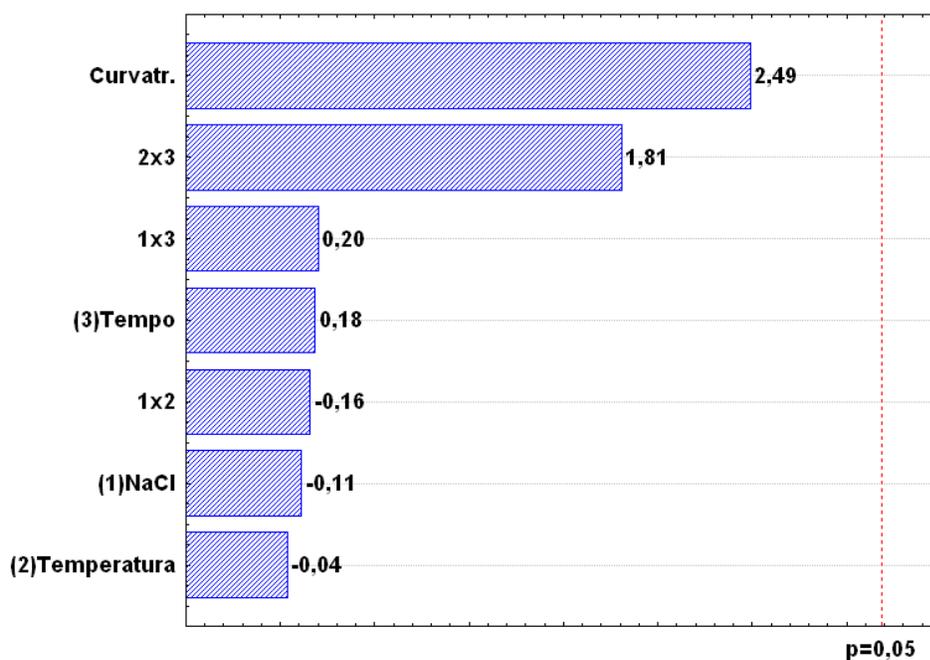


Figura 18. Gráfico de Pareto obtido para o teste de robustez das variáveis estudadas.

Como pode ser observado na Figura 18, não há diferença significativa com nível de confiança de 95% para os intervalos propostos. A curvatura positiva neste caso confirma as maiores respostas obtidas no valor ótimo para cada variável. Sendo assim o intervalo de robustez para esta metodologia pode ser definida como $3,4 \pm 0,5$ g de NaCl para força iônica, 36 ± 4 °C para temperatura, 26 ± 6 minutos para tempo de extração e (como indicado na Figura 23) $5,4 \pm 2,2$ para pH da amostra.

Curvas de calibração foram construídas para avaliar a faixa linear, coeficientes de correlação e limites de detecção e quantificação do método proposto, tais valores são apresentados na Tabela 7.

Tabela 7. Faixa dinâmica de trabalho, coeficientes de correlação e limites de detecção e quantificação na otimização da fibra ZrO₂ na extração de haloanisóis em vinho tinto.

Compostos	Faixa linear ^a	R ^b	LD ^c , ng L ⁻¹	LQ ^c , ng L ⁻¹
TCA	20 - 3000	0,998	6,8	22,7
TBA	20 - 3000	0,998	7,1	23,7
PCA	20 - 3000	0,999	8,0	26,8

^a faixa linear de trabalho em ng L⁻¹; ^b Coeficiente de correlação da curva de calibração; ^c limite de detecção; ^d limite de quantificação.

Ótimos coeficientes de correlação (R) foram obtidos, maiores que 0,998. Os limites de detecção obtidos foram menores que 8,0 ng L⁻¹ e são similares a outros trabalhos da literatura para análise de haloanisóis em amostras de vinho. Utilizando SPME como técnica de preparação de amostra. Martínez-Uruñuela *et al.* [103] obtiveram LD de 2,5 e 1,3 ng L⁻¹ para TCA e PCA respectivamente, utilizando a fibra comercial DVB/CAR/PDMS e detecção por captura de elétrons. Gómez-Ariza *et al.* [102] obtiveram LD de 7 e 15 ng L⁻¹ para TCA e TBA respectivamente, utilizando MHS-SPME com a fibra DVB/CAR/PDMS e detecção por MS/MS.

O método apresentou excelente precisão, com desvio padrão relativo (RSD) na faixa de 3,3 a 7,0%.

☞ Amostras de vinho tinto

A metodologia proposta foi aplicada para a análise de cinco amostras de vinho tinto provenientes da Serra Gaúcha, estado do Rio Grande do Sul, Brasil. Os compostos em estudo não foram encontrados em nenhuma das amostras avaliadas. Os analitos estão abaixo do LD proposto pelo método. Assim para

avaliar a exatidão do método foi realizado um teste de recuperação pela técnica de enriquecimento no qual cada amostra de vinho foi acrescida de 250, 210 e 160 ng L⁻¹ de TCA, TBA e PCA, respectivamente. Primeiramente o teste de recuperação foi realizado na amostra de vinho pura (20 mL) no qual as recuperações não foram satisfatórias. Como previamente descrito [103] para uma calibração executada com uma solução sintética de vinho, a diluição da amostra é uma maneira razoável para se obter recuperações melhores. Assim, uma diluição das amostras foi realizada, adicionando 5 mL da água em 15 mL da amostra de vinho. De fato, melhores recuperações foram obtidas aplicando este fator da diluição, como pode ser visto na Tabela 8.

As amostras de vinho com 25% de diluição apresentaram satisfatórios valores de recuperação, 77,4 – 118,0%. A matriz sintética não simulou suficientemente bem a complexa matriz do vinho, mesmo contendo seus componentes majoritários. Contudo, compostos presentes no vinho como como taninos e polifenóis podem estar influenciando fortemente na retenção dos analitos comparativamente à matriz sintética. Assim, a diluição torna as duas matrizes mais semelhantes o que promove melhores recuperações. O perfil cromatográfico de uma amostra de vinho enriquecida com os três haloanisóis pode ser visualizada através da Figura 19.

Tabela 8 . Recuperação para haloanisóis em vinho tinto utilizando a fibra NiTi-ZrO₂, avaliando a amostra com e sem diluição.

Compostos	Recuperação, %	
	Sem diluição	Diluição 25%
<i>Amostra 1</i>		
TCA	71,8 ± 3,1	118,0 ± 2,4
TBA	57,6 ± 2,9	94,7 ± 3,5
PCA	54,1 ± 7,0	91,7 ± 4,3
<i>Amostra 2</i>		
TCA	66,7 ± 5,7	98,8 ± 5,0
TBA	48,9 ± 4,2	77,4 ± 8,2
PCA	61,6 ± 3,1	86,3 ± 3,5
<i>Amostra 3</i>		
TCA	37,6 ± 2,8	89,7 ± 1,9
TBA	39,3 ± 4,5	78,9 ± 6,0
PCA	56,4 ± 4,9	104,0 ± 1,5
<i>Amostra 4</i>		
TCA	40,9 ± 3,6	90,7 ± 1,7
TBA	39,2 ± 4,6	78,5 ± 5,1
PCA	48,1 ± 3,3	86,4 ± 2,3
<i>Amostra 5</i>		
TCA	41,8 ± 3,0	78,8 ± 2,2
TBA	42,8 ± 2,7	82,1 ± 4,8
PCA	48,4 ± 1,8	82,8 ± 1,3

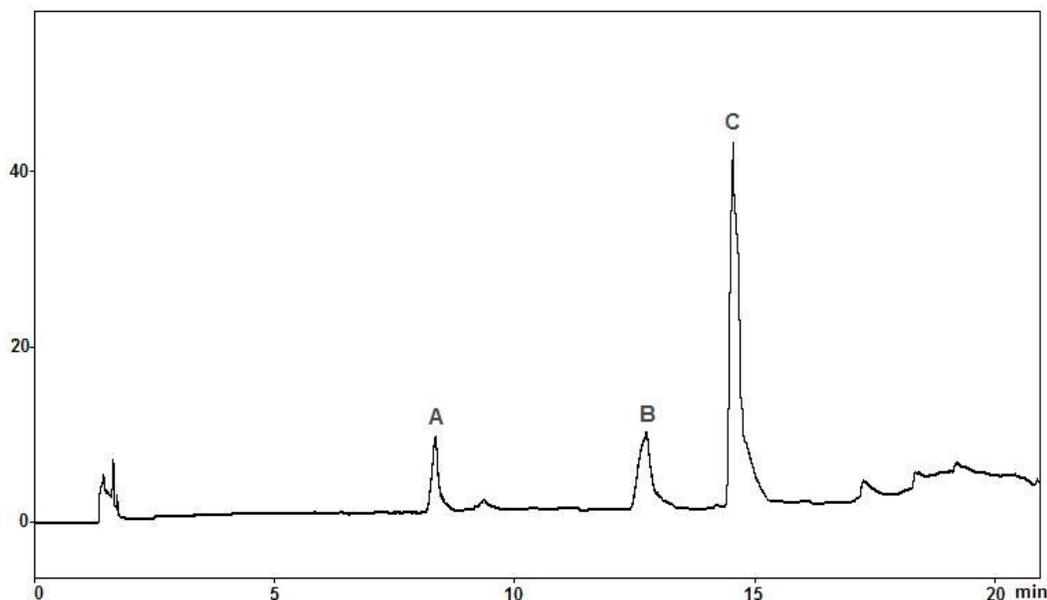


Figura 19. Perfil cromatográfico de uma amostra de vinho enriquecida com uma solução padrão de haloanisóis. (A) TCA; (B) TBA e (C) TCP.

☞ *Comparação da fibra NiTi-ZrO₂ com fibras comerciais*

A eficiência de extração da fibra NiTi-ZrO₂ foi comparada a fibra comercial de PDMS 7 μm. Esta fibra comercial foi selecionada por apresentar um menor volume de recobrimento visto que a fibra de ZrO₂ possui uma espessura de recobrimento de 1,35 μm. As condições de extração foram fixadas igualmente para as duas fibras.

Para álcoois uma solução gasosa de 776 μg L⁻¹ foi extraída por 20 minutos a 35°C. A extração em fase gasosa de BTEX foi realizada com concentração de 480 μg L⁻¹ com temperatura de 35°C e tempo de extração de 15 minutos. Para THM em fase gasosa a extração foi realizada com concentração de 4,41 μg L⁻¹, temperatura de 25°C por 20 minutos. Para halofenóis em água as variáveis fixadas incluíram temperatura de extração a 55°C, tempo de extração de 14 minutos, concentração da amostra 2 μg L⁻¹, 160 e 490 μL de anidrido acético e carbonato de sódio respectivamente, com 6 g de NaCl. Para haloanisóis realizou-se a extração de uma amostra de vinho

tinto com 500 ng L⁻¹ de cada haloanisol, 3,4 g de NaCl, 36°C e 26 min como temperatura e tempo de extração, respectivamente. Essa comparação pode ser visualizada através da Figura 20.

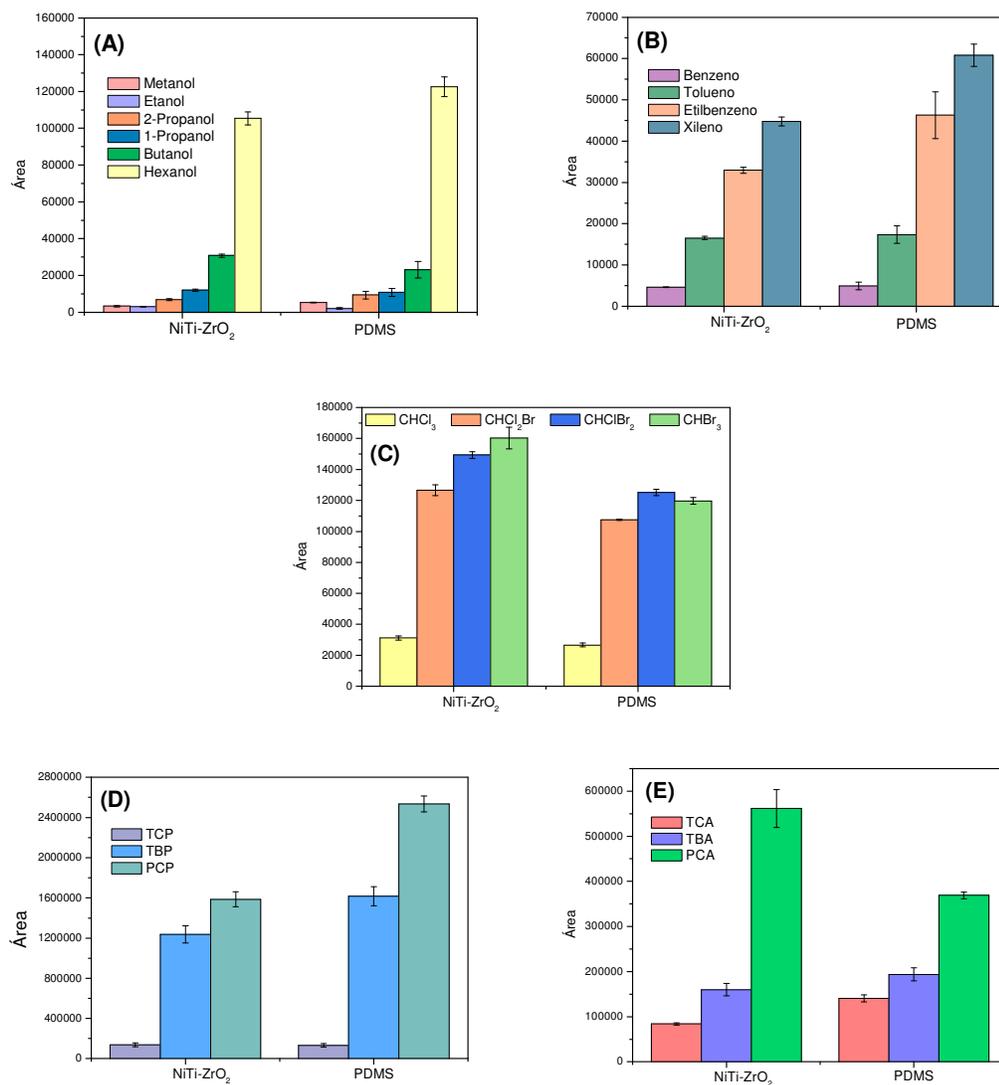


Figura 20. Comparação da fibra ZrO₂ 1,35 µm com a fibra comercial PDMS 7 µm. (A) álcoois, (B) BTEX, (C) THM, (D) halofenóis e (E) haloanisóis.

Como pode ser visualizado através da Figura 20, a capacidade de extração da fibra NiTi-ZrO₂ é muito semelhante a fibra de PDMS comercial. Apesar da fibra de PDMS 7 µm apresentar uma pequena superioridade para

extração da maioria dos compostos, a fibra de NiTi-ZrO₂ apresentou melhor desempenho para THM, mesmo contendo uma espessura de recobrimento bem menor.

Uma outra forma de comparação é apresentada por Wang, et al. [54], no qual a área cromatográfica é dividida pelo volume do recobrimento sorvente da fibra de SPME. As fibras avaliadas e seus respectivos volumes e espessuras [109] são detalhados na Tabela 9.

Tabela 9 . Espessuras e volumes de recobrimento para diferentes fibras.

Fibras	Diâmetro do Suporte (mm)	Recobrimento		
		Altura (mm)	Espessura (μm)	Volume (μL)
PDMS	0,11 ^a	10	7	0,026
PDMS	0,11 ^a	10	30	0,132
PDMS	0,11 ^a	10	100	0,660
PA	0,11 ^a	10	85	0,521
CW/DVB	0,11 ^a	10	65	0,357
DVB/CAR/PDMS	0,11 ^a	20	30-50	0,955
NiTi-ZrO ₂	0,30 ^b	10	1,35	0,013
NiTi-ZrO ₂ -PDMS	0,20 ^b	10	25	0,177
NiTi-ZrO ₂ -PEG	0,20 ^b	10	17	0,116

^a sílica fundida ; ^b liga de NiTi.

A fibra DVB/CAR/PDMS possui um filme interno, 30 μm , de carboxen aderido ao suporte de sílica fundida com PDMS e outro filme, 50 μm , de DVB também aderido com PDMS, resultando em uma espessura de recobrimento total de 80 μm [23]. Para álcoois, BTEX e THM a comparação foi realizada entre as fibras de NiTi-ZrO₂, PDMS e PA. Para halofenóis e haloanisóis as fibras avaliadas foram NiTi-ZrO₂, PDMS e DVB/CAR/PDMS. Os resultados estão ilustrados na Figura 21. Como pode ser observado, a fibra de NiTi-ZrO₂ teve uma maior capacidade adsortiva por unidade de volume de recobrimento

comparativamente às outras fibras avaliadas para a maior parte dos compostos, não sendo superior apenas para hexanol. Estes resultados demonstram a alta capacidade de adsorção da fibra de NiTi-ZrO₂. Mesmo contendo uma fina camada de adsorvente esta nova fibra pode ser aplicada com eficiência na extração dos compostos avaliados.

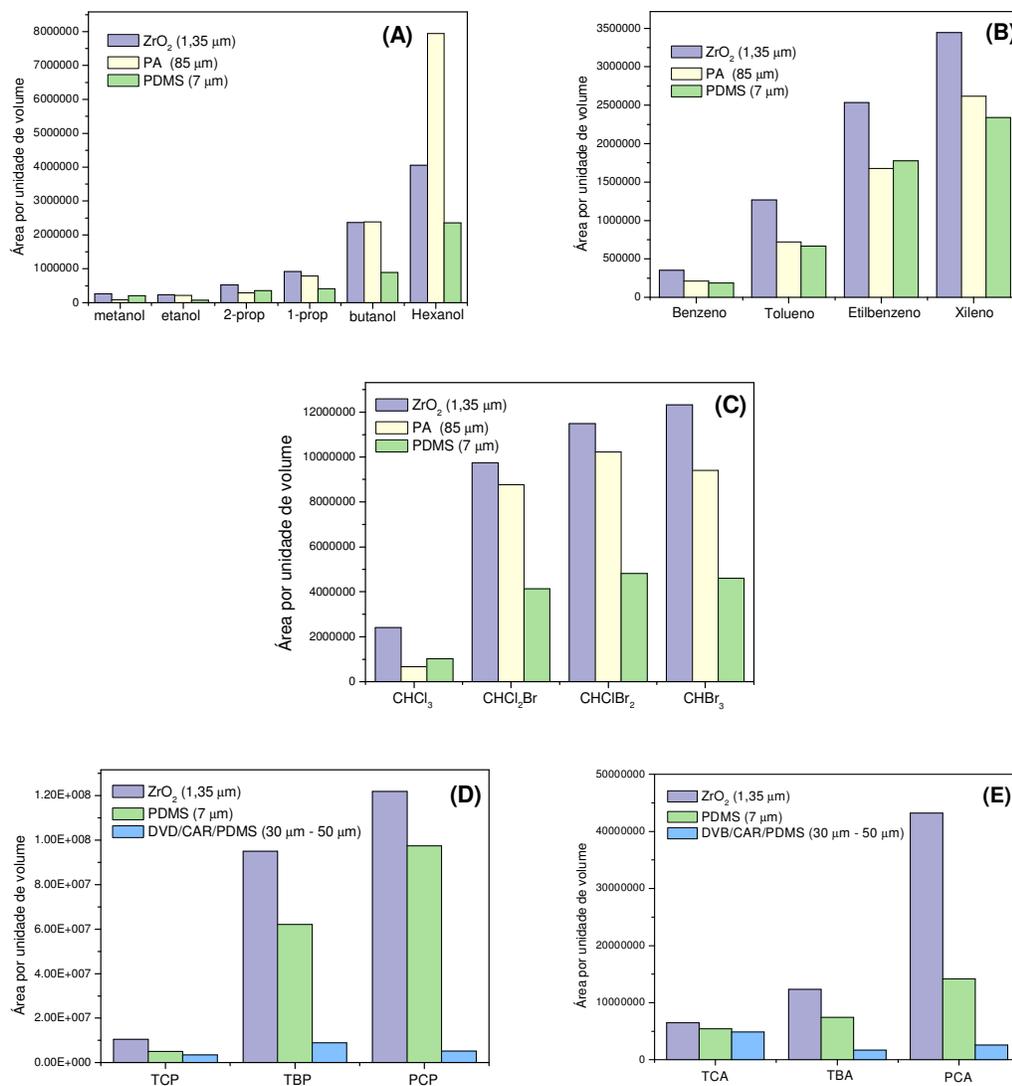


Figura 21. Comparação da eficiência de extração por unidade de volume usando três fibras diferentes para: (A) álcoois, (B) BTEX, (C) THM, (D) halofenóis e (E) haloanisóis.

5.5. Conclusões parciais

A fibra proposta, NiTi-ZrO₂, mostrou-se suficientemente seletiva para a determinação de haloanisóis, com limites de detecção comparáveis a outros métodos reportados na literatura. A capacidade de extração mostrou-se estável e constante por mais de 700 extrações. A eficiência de extração da fibra NiTi-ZrO₂ foi similar a fibra comercial de PDMS 7 µm. Considerando a quantidade extraída por unidade de volume de recobrimento, a fibra NiTi-ZrO₂ apresentou uma maior capacidade de extração em comparação com outras fibras comerciais avaliadas. Esta comparação foi realizada para todas as classes estudadas com esta fibra, álcoois, BTEX e THM em amostras gasosas, halofenóis em amostras aquosas e haloanisóis em amostras de vinho tinto.

Capítulo 6

Nova fibra de PDMS obtida por processo sol-gel usando como suporte a liga de NiTi zirconizada⁵

6.1. Introdução

As vantagens da liga de NiTi em termos de memória de forma, superelasticidade, durabilidade, resistência a corrosão e biocompatibilidade, somadas com as vantagens dos recobrimentos com óxido de zircônia, incluindo forte adesão a superfícies metálicas, excelente biocompatibilidade, alta estabilidade térmica e resistência a corrosão e ao desgaste, sugerem que a liga de NiTi eletroliticamente recoberta com óxido de zircônia possa oferecer uma promissora alternativa como novo suporte para a técnica de micro extração em fase sólida.

Neste estudo, uma nova fibra de SPME é proposta, combinando as vantagens da liga de NiTi recoberta com ZrO_2 com as vantagens da química de sol-gel. NiTi- ZrO_2 é usado como substrato (em substituição a sílica fundida, tradicionalmente usada como suporte) para recobrimento de polidimetilsiloxano (PDMS) usando tecnologia sol-gel.

6.2. Objetivo

Avaliar o desempenho da liga NiTi eletroliticamente recoberta com ZrO_2 como substrato para reações sol-gel usando como polímero de recobrimento

⁵ Publicado em *Journal of Chromatography A*, 1187 (2008) 34-39

polidimetilsiloxano (PDMS). Aplicar a nova fibra metálica recoberta com PDMS por processo sol-gel na extração de BTEX em matrizes aquosas.

6.3. Parte experimental

✎ Instrumentação

As análises cromatográficas foram realizadas em cromatógrafo a gás modelo Shimadzu GC-14B, equipado com injetor split/splitless com detector por ionização em chama (FID). As separações cromatográficas para BTEX foram realizadas em coluna capilar OV-5 (30m x 0,25mm x 0,25 μm ; OV Specialty Chemical, Marietta, OH). Nitrogênio ultrapuro foi usado como gás carreador e auxiliar (make-up). A programação de temperatura do forno foi 40°C (1 min); 10 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$ até 100°C; 15 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$ até 190°C. A temperatura do injetor e detector fixada em 300°C e 280°C, respectivamente.

A morfologia e composição das fibras, com e sem recobrimento de PDMS, foi avaliada por microscopia eletrônica de varredura (SEM), através de microscópio Philips XL-30, e micro-análise semi-quantitativa por dispersão de energia (EDS).

✎ Reagentes para SPME

Soluções estoques de BTEX (benzeno, tolueno, etilbenzeno e xileno) (Sigma-Aldrich) foram preparadas pela diluição em acetona (Tedia). As soluções de trabalho foram preparadas pela diluição das soluções estoque em água deionizada de um sistema Milli-Q (Millipore, Bedford, MA, USA). Cloreto de sódio (Nuclear, Diadema, SP) foi utilizado para aumentar a força iônica das soluções aquosas.

Os reagentes sol-gel usados na preparação das fibras NiTi-ZrO₂-PDMS: metiltrimetoxisilano - MTMS (UCT, Bristol, PA, USA), trimetilmtoxissilano –

TMMS, hidroxi-terminal polidimetilsiloxano (PDMS-OH), polimetilhidrosiloxano – PMHS (Sigma-Aldrich,) e ácido trifluoroacético – TFA (Vetec).

✎ Eletrodeposição

Fios de NiTi com 0,2 mm de espessura e aproximadamente 2 cm de comprimento foram usados como suportes para eletrodeposição. Apenas 1 cm foi eletrodepositado com ZrO_2 . As condições de eletrodeposição utilizadas neste trabalho são iguais as condições usadas para eletrodepositar os fios de NiTi com 0,3 mm de espessura, descritas previamente ⁶.

✎ Preparação das fibras metálicas de PDMS por processo sol-gel

Fios de NiTi previamente eletrodepositados com ZrO_2 foram imersos em uma solução de NaOH $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ por 1 hora para a ativação da superfície da fibra. Depois deste tempo, as fibras foram rinsadas com água deionizada e imersas em uma solução de HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ por 30 minutos, lavadas em água deionizada novamente e usadas para como suporte para recobrimento sol-gel por um tempo máximo de 5 horas.

A solução sol de PDMS foi preparada com 300 μL de metiltrimetoxisilano, 180 μL de PDMS hidroxi-terminal, 30 mg de PMHS e 200 μL de 95% TFA (contendo 5% de água) em tubos capilares de vidro. Um centímetro das fibras ativadas de NiTi- ZrO_2 foram verticalmente imersas em uma solução sol límpida por aproximadamente 20 minutos. Este procedimento foi repetido 3 vezes, sempre com uma solução sol recém preparada. Cinco fibras foram montadas em aparatos de SPME comerciais e condicionadas por 30 min na porta do injetor a 250°C . Três fibras foram preparadas exatamente da mesma forma, porém, usando como suporte um fio de NiTi não zirconizado (sem ZrO_2).

⁶ Ver Capítulo 3

✎ *Estratégias de otimização*

As condições que influenciam a extração dos compostos foram otimizadas por dois consecutivos planejamentos fatoriais completos em dois níveis. O primeiro planejamento incluiu força iônica pela adição de cloreto de sódio (0 e 6 g), temperatura de extração (3 e 35°C) e tempo de extração (5 e 20 min) incluindo quatro replicatas no ponto central, resultando em 12 experimentos. A partir dos resultados do primeiro planejamento fatorial fixou-se a variável força iônica em seu nível máximo (6 g de NaCl) e um segundo planejamento foi avaliado incluindo temperatura de extração (3 e 9°C) e tempo de extração (12 e 20 min) com um ponto central em três replicatas, resultando em 7 experimentos.

Todas as análises foram realizadas em frascos de 40 mL, 20 mL de amostra, agitação magnética constante e com amostragem a partir do headspace da amostra. A otimização foi realizada com uma solução contendo 50 µg L⁻¹ de cada BTEX.

6.4. Resultados e discussões

Trabalhos realizados com reações sol-gel em suporte de sílica fundida [62, 110] mostraram a importância de se ativar o suporte para uma exposição mais efetiva dos grupos silanóis em sua superfície, favorecendo assim, a ligação química entre o suporte e o polímero o qual leva a uma alta estabilidade térmica do recobrimento. Para reações sol-gel em superfícies metálicas também é necessária a presença de grupamentos OH em sua superfície para favorecer uma efetiva ligação química.

Azenha *et al.* [111] obtiveram ótimos resultados ativando os próprios grupamentos nativos de um fio de titânio com solução 1,0 mol L⁻¹ de NaOH, para posterior reação sol-gel sobre a sua superfície.

A liga aproximadamente equiatômica de NiTi eletrodepositada com óxido de zircônio foi aplicada satisfatoriamente como nova fibra de SPME na análise de álcoois, BTEX e trihalometanos em amostras gasosas, assim como na análise de halofenóis em águas de rio e haloanisóis em amostras de vinho tinto. Entretanto, a sua pequena espessura de recobrimento aliada a sua característica hidrofílica, limita a sua aplicabilidade para amostras aquosas no uso de detectores extremamente sensíveis tal como o detector por captura de elétrons.

Com a ativação do suporte NiTi-ZrO₂ com soluções de hidróxido de sódio 1,0 mol L⁻¹ e posterior solução de ácido clorídrico 0,5 mol L⁻¹, sugere-se uma exposição de grupamentos Zr-OH em sua superfície o que possibilita a aplicação do conjunto NiTi-ZrO₂ como um novo suporte para reações sol-gel.

✎ Caracterização da fibra NiTi-ZrO₂-PDMS

Após os três ciclos de reações sol-gel sobre o suporte NiTi-ZrO₂ ativado, foi realizada uma caracterização de sua superfície por microscopia eletrônica de varredura (SEM) e uma avaliação química com microanálise por energia dispersiva (EDS).

Na Figura 22 são ilustradas duas micrografias do suporte recoberto com PDMS. Na Figura 22A é representada uma fibra após recobrimento e sem condicionamento prévio, na qual observa-se pequenos pontos com excesso do polímero de recobrimento, confirmados através de análise pontual. Na Figura 22B, a fibra condicionada por 30 minutos a 250 °C no injetor do cromatógrafo a gás, onde se observa agora uma superfície mais uniforme e homogênea, sem os excessos de PDMS. Seis fibras foram recobertas pelo mesmo processo sol-gel; três destas foram condicionadas termicamente e apresentaram menor quantidade de PDMS em sua superfície e melhor homogeneização comparadas as outras três fibras que não foram condicionadas, as quais apresentaram os mesmos pontos com excesso de recobrimento PDMS mostrados na Figura

22A. Assim sendo, sugere-se que o condicionamento térmico ajuda na homogeneização da superfície.

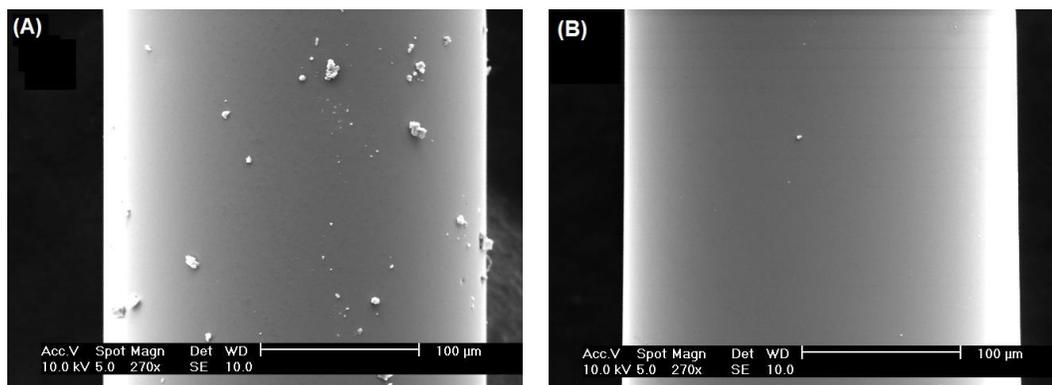


Figura 22. Micrografias eletrônicas de varredura da fibra NiTi-ZrO₂-PDMS (A) antes e (B) após condicionamento térmico. Ampliação 270x.

Os grupos Zr-OH na superfície do suporte também podem também participar através de reações de condensação e assim prover ancoramento químico à cadeia polimérica na vizinhança imediata da superfície da fibra. Um desenho esquemático da superfície zirconizada da liga de NiTi ligada a cadeia polimérica de PDMS é apresentado na Figura 23.

NiTi-ZrO₂ Surface

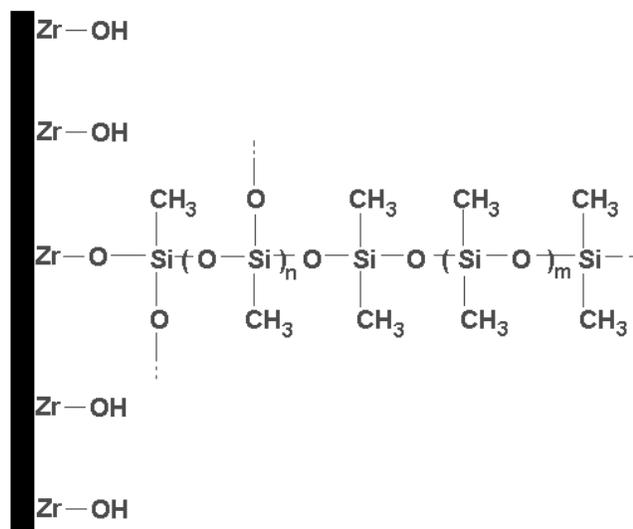


Figura 23. Superfície de NiTi-ZrO₂ ligada por processo sol-gel ao recobrimento de PDMS.

Seguindo o que sugere Azenha *et al.* [111], somente o suporte metálico (NiTi sem a camada de zircônia) foi ativado com NaOH 1,0 mol L⁻¹ posteriormente lavada com solução 0,1 mol L⁻¹ de HCl, água e metanol, e utilizado como substrato para reações sol-gel. As micrografias das fibras NiTi-PDMS são ilustradas na Figura 24.

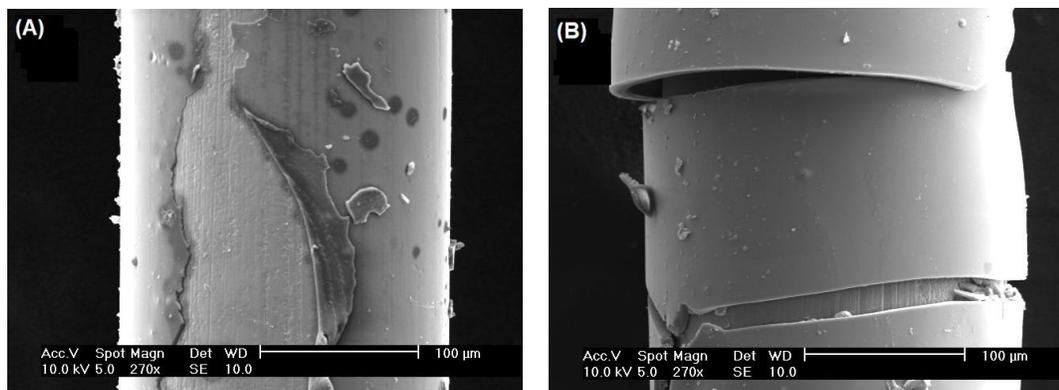


Figura 24. Micrografias eletrônicas de varredura da fibra de NiTi recoberta com PDMS sem a camada de óxido de zircônio, (A) antes e (B) após condicionamento térmico. Ampliação 270x.

O recobrimento nas fibras sem a camada de zircônia, não apresentou uma aderência satisfatória ao suporte, principalmente após condicionamento a 250°C no injetor do cromatógrafo a gás (Figura 24B) com áreas deficientes em polímero e um descolamento de recobrimento do suporte metálico. Quando não há o filme de zircônia sobre o fio de NiTi, o recobrimento polimérico não é uniforme e em muitos casos a espessura de recobrimento não é reprodutível, resultando em diferentes espessuras como mostrado na Figura 24. Assim para uma maior uniformidade e estabilidade térmica do recobrimento sol-gel, a eletrodeposição de ZrO₂ sobre a liga de NiTi mostrou-se necessária.

Um corte no recobrimento polimérico de uma das fibras, previamente condicionada, foi realizado para avaliar espessura de recobrimento polimérico formado. Esta micrografia é ilustrada na Figura 25. A espessura de recobrimento avaliada através do corte transversal foi concordante com a

espessura encontrada comparando micrografias com e sem a camada de PDMS, sendo aproximadamente 25 μm .

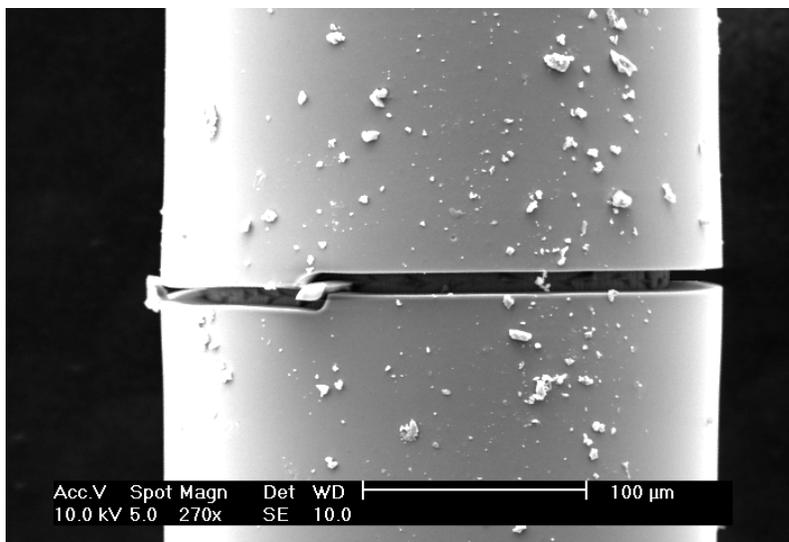


Figura 25. Corte no recobrimento polimérico da fibra NiTi-ZrO₂-PDMS.
Ampliação 270x.

Uma avaliação química da superfície do recobrimento foi realizada através de microanálise por energia dispersiva (EDS), ilustrada pela Figura 26. O espectro da fibra apresentou um pico em 0,2 keV e um pico em 1,8 keV que foram atribuídos a linha de emissão $K\alpha$ do carbono e silício, respectivamente. Compostos que são característicos do recobrimento de polidimetilsiloxano. Em 2,2 keV houve um pico atribuído a linha de emissão $M\alpha$ do ouro, o qual foi usado como recobrimento para possibilitar a realização da análise por EDS.

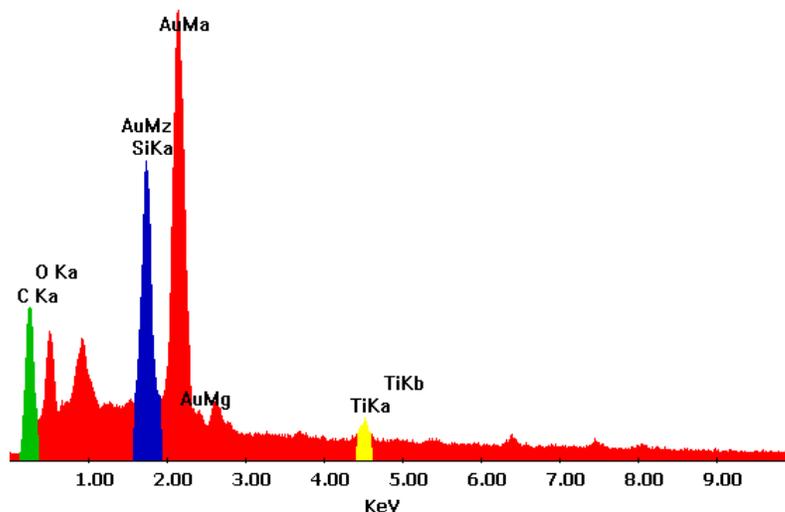


Figura 26. Microanálise por energia dispersiva da superfície da fibra NiTi-ZrO₂-PDMS.

✎ *Avaliação da fibra NiTi-ZrO₂-PDMS: estabilidade térmica e extração de BTEX*

A aplicabilidade da nova fibra superelástica de SPME, NiTi-ZrO₂-PDMS, foi demonstrada através da extração de BTEX em amostras aquosas. Para tal, alguns parâmetros envolvidos na eficiência de extração da fibra foram otimizados, e posteriormente os principais parâmetros de mérito foram avaliados.

Antes desta aplicação, a estabilidade térmica do recobrimento de PDMS sobre o suporte NiTi-ZrO₂ foi avaliada na faixa de temperatura de 240 a 320 °C, onde realizou-se cada ponto em cinco replicatas e para este estudo o tempo de dessorção foi fixado em 10 minutos. O resultado pode ser verificado através da Figura 27. Não houve perda de sinal e de material sorvente na temperatura máxima estudada, sugerindo assim, a presença de ligações químicas entre o suporte metálico eletrodepositado e a camada polimérica. Essa é uma característica positiva comparativamente a estabilidade térmica das fibras de PDMS comerciais (100 e 30 μm), onde a temperatura máxima recomendada pelo fabricante é de 280 °C. Esta estabilidade térmica é altamente desejada

para melhorar tanto a forma dos picos cromatográficos como eliminar efeitos de memória. Para estudos posteriores o tempo de dessorção foi fixado em três minutos.

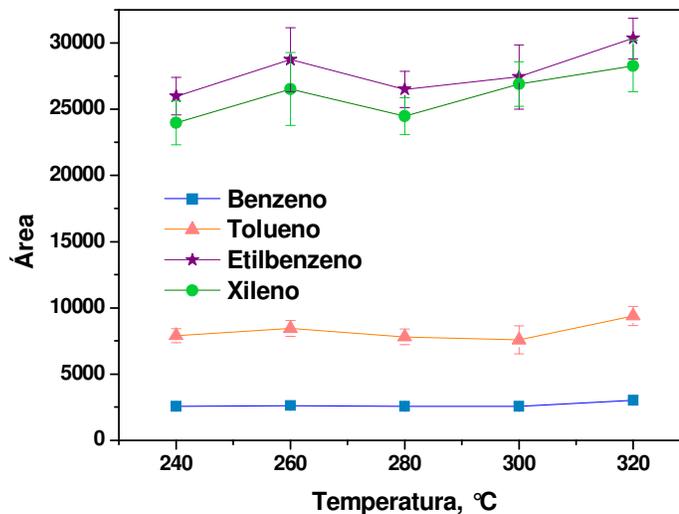


Figura 27. Avaliação da estabilidade térmica do recobrimento de PDMS sobre o suporte NiTi-ZrO₂.

As variáveis que influenciam o processo de extração foram estudadas de maneira simultânea através de planejamento fatorial completo em dois níveis com inclusão de ponto central em quatro replicatas. Os seguintes fatores foram avaliados: efeito salting-out (0 e 6 g NaCl para 20 mL de amostra), temperatura de extração (3 e 35°C) e tempo de extração (5 e 20 minutos) resultando em 12 experimentos. O gráfico de Pareto da Figura 28 ilustra os resultados.

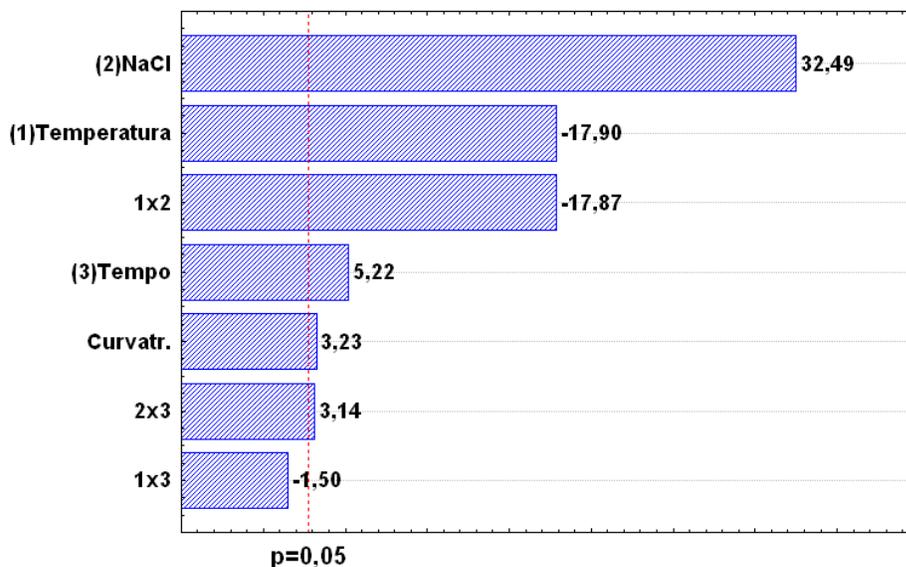


Figura 28. Gráfico de Pareto obtido através dos resultados do planejamento fatorial completo para otimização do efeito salting-out (NaCl), tempo e temperatura de extração para BTEX em água.

A variável que apresentou efeito mais significativo sobre a resposta analítica corresponde a adição de NaCl, com um valor positivo (32,49). Isto indica uma maior eficiência de extração devido ao efeito salting-out. A interação entre a força iônica e a temperatura de extração foi também significativa, indicando que estas variáveis poderiam ser estudadas mais detalhadamente. Entretanto, este efeito de interação deve ser interpretado com a ajuda dos efeitos principais destas variáveis, a qual indica que uma melhor resposta é obtida com o maior nível de força iônica e menor temperatura de extração. Assim, como o maior nível para força iônica estudado foi a saturação da amostra (30%), optou-se em fixar esta variável em seu nível mais alto e avaliar a temperatura e o tempo de extração mais detalhadamente. O efeito da temperatura de extração também foi estatisticamente significativo, mas com um valor negativo, indicando uma maior eficiência de extração no nível inferior avaliado, ou seja, 3°C. A melhor eficiência em baixas temperaturas está relacionada à natureza exotérmica do processo de sorção conjuntamente a alta volatilidade desses compostos mesmo em baixa temperatura. Ou seja, a etapa determinante no processo de transferência de massa da amostra para a

fibra é a difusão dos compostos pela fibra, e não a evaporação destes da amostra aquosa. O tempo de extração também se mostrou significativo nos níveis estudados, demonstrando que o equilíbrio não é alcançado entre 5 minutos de extração.

A otimização final das variáveis significativas apontadas pelo planejamento fatorial geralmente é realizada através de uma metodologia de superfície de resposta. Alternativamente, um segundo planejamento fatorial pode ser realizado, onde os níveis mínimo e máximo de cada variável são rearranjados de acordo com os resultados do primeiro planejamento. Assim, as variáveis tempo e temperatura de extração foram otimizados através de um novo planejamento fatorial completo com uma triplicata no ponto central, resultando em 7 experimentos. O tempo de extração foi avaliado nos níveis 12 e 20 minutos e a temperatura de extração nos níveis 3 e 9°C. O gráfico de Pareto é ilustrado na Figura 29.

Nenhuma variável foi estatisticamente significativa no intervalo estudado. Assim, este resultado corresponde tanto ao intervalo onde se obtém maiores respostas analíticas quanto à robustez do método para um nível de confiança de 95%. Assim, o tempo de extração usado foi 16 ± 4 minutos e a temperatura de extração foi 6 ± 3 °C.

A partir dos resultados de otimização fixou-se o tempo e a temperatura de extração em 15 minutos e 6°C, respectivamente. A performance do método proposto para a aplicação da fibra NiTi-ZrO₂-PDMS foi avaliado e os resultados são apresentados na Tabela 10.

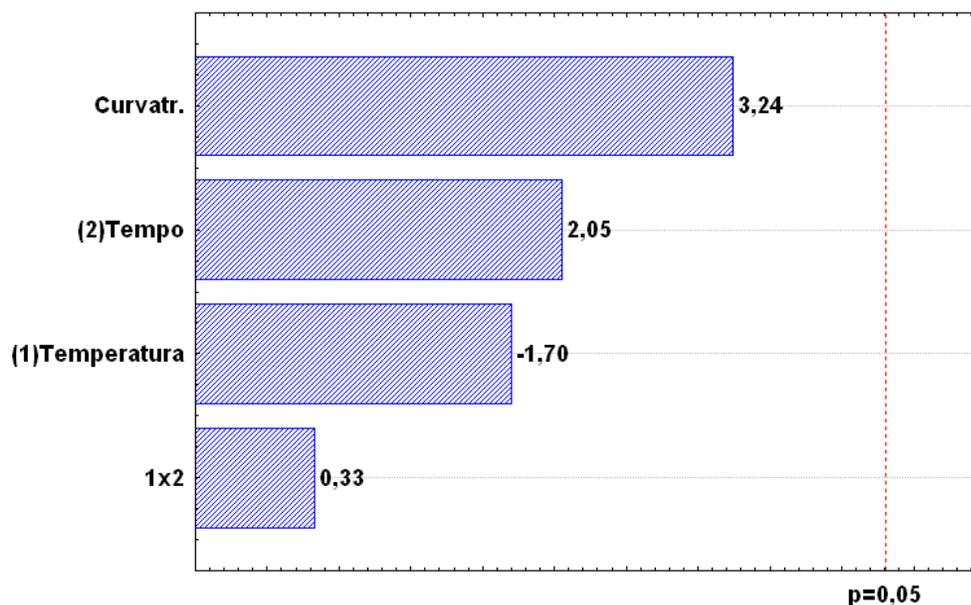


Figura 29. Gráfico de Pareto obtido na otimização do tempo e temperatura de extração para BTEX em água.

Tabela 10. Faixa linear, coeficientes de correlação, limites de detecção e quantificação obtidos para o método na determinação de BTEX em água usando a fibra NiTi-ZrO₂-PDMS.

Compostos	Faixa linear ^a	R ^b	LD ^c , µg L ⁻¹	LQ ^c , µg L ⁻¹
Benzeno	5 - 200	0,99997	1,6	5,2
Tolueno	5 - 200	0,99994	1,6	5,2
Etilbenzeno	2 - 200	0,99999	0,6	1,9
Xileno	2 - 200	0,99999	0,6	2,1

^a faixa linear de trabalho; ^b coeficiente de correlação da curva de calibração; ^c limite de detecção; ^d limite de quantificação.

Excelentes coeficientes de correlação foram obtidos, sendo maiores que 0,99994. Ótimos limites de detecção foram observados na faixa de 0,6 a 1,6 µg L⁻¹. A repetitividade do método, utilizando a mesma fibra de SPME, obtida para 7 ensaios consecutivos envolveu a faixa de 1,4 a 4,0%. A reprodutibilidade (usando 5 diferentes fibras) também foi avaliada e o desvio padrão relativo envolveu a faixa de 3,9 a 6,7%.

6.5. Conclusões parciais

Os resultados apresentados neste capítulo mostram que a liga de NiTi eletrodepositada com óxido de zircônia é um excelente substrato para reações sol-gel. A fibra proposta, NiTi-ZrO₂-PDMS, apresentou excelente estabilidade térmica até 320°C. A fibra também apresentou ótima sensibilidade para os compostos avaliados, demonstrando assim a sua aplicabilidade.

Capítulo 7

Aplicação da fibra NiTi-ZrO₂-PDMS na determinação de pesticidas em infusões herbais⁷

7.1. Introdução

Uma larga variedade de pesticidas é aplicada em diferentes tipos de plantações visando reduzir as perdas causadas por ervas daninhas, insetos e doenças. Como consequência disto, as plantas herbais correm um risco elevado de contaminação por produtos químicos agrícolas, tais como os pesticidas organoclorados (OCP). Alguns OCP foram proibidos nos anos 70 devido a sua toxicidade e persistência, muitos são persistentes e também lipofílicos o que favorece o seu acúmulo em tecidos adiposos. [112, 113].

Os pesticidas podem ser classificados de acordo com seu alvo, sua modalidade ou período de ação, ou sua propriedade química. Embora mais de 500 formulações diferentes de pesticidas sejam usadas em nosso ambiente, em sua maior parte na agricultura, o controle de perigos biológicos à saúde pública continua sendo um campo de aplicação importante. Nos últimos 50 anos, o uso de pesticidas aumentou a quantidade e melhorou a qualidade dos alimentos para a população crescente do mundo. Entretanto, com as quantidades crescentes usadas, o interesse sobre os efeitos adversos causados a diferentes organismos, incluindo seres humanos, também cresceu [114].

⁷ Publicado em *Journal of Separation Science*, 31 (2008) 2875-2881

Muitos tipos de plantas são consumidos em todo o mundo como infusões muitas vezes com finalidades terapêuticas. O chá é uma das bebidas mais populares no mundo, a ingestão diária em alguns países alcança 3 litros/pessoa, de modo que tais bebidas podem representar uma fonte importante da exposição humana aos pesticidas [115].

7.2. *Objetivo*

O objetivo deste trabalho é ampliar a aplicabilidade da nova fibra robusta de SPME, NiTi-ZrO₂-PDMS, analisando pesticidas organoclorados em diferentes infusões herbais.

7.3. *Parte experimental*

✎ Instrumentação

As análises cromatográficas foram realizadas em cromatógrafo a gás modelo Shimadzu GC-14B, equipado com injetor split/splitless com detector por captura de elétrons (ECD). As separações cromatográficas para pesticidas foram realizadas em coluna capilar OV-5 (30m x 0,25mm x 0,25 µm; OV Specialty Chemical, Marietta, OH). Nitrogênio ultrapuro foi usado como gás carreador e make-up. A programação de temperatura do forno foi 80°C (4 min); 15°C min⁻¹ até 215°C (0,5 min); 2°C min⁻¹ até 230°C (3 min); 5°C min⁻¹ até 260°C (2 min). A temperatura do injetor e detector fixada em 290°C e 300°C, respectivamente.

✎ Reagentes para SPME

Padrões dos pesticidas heptaclor, aldrin, heptaclor epoxide, endosulfan I, *p,p'*-DDE, dieldrin, endrin, endosulfan II e *p,p'*-DDD (Sigma-Aldrich, Milwaukee, WI, USA) foram preparados em metanol grau HPLC (Tedia,

Fairfield, OH, USA). Cloreto de sódio (Nuclear, Diadema, SP) foi utilizado para aumentar a força iônica.

☞ *Preparação das infusões herbais*

Tanto para a etapa de otimização quanto para a etapa de validação do método, uma infusão de camomila (*Matricaria recutita*, L.) foi preparada com 1,0 g de flores secas de plantas cultivadas totalmente livres de qualquer pesticida (obtidas em um mercado de produtos orgânicos) em 300 mL de água quente (80°C) por três minutos. A presença de pesticidas organoclorados foi investigada em cinco diferentes amostras comerciais: hortelã (*Mentha piperita*, L.), cidreira (*Cymbopogon citratus*, Stapf), camomila (*Matricaria recutita*, L.), melissa (*Melissa Officinalis*, L.) e erva doce (*Pimpinella anisum*, L.)

☞ *Estratégias de otimização*

Um planejamento fatorial em dois níveis foi realizado, incluindo temperatura de extração (40 e 70°C), tempo de extração (30 e 40 min) e força iônica pela adição de cloreto de sódio (0 e 7 g). Duas replicatas no ponto central foram incluídas no planejamento. De acordo com os resultados obtidos pelo planejamento experimental. Um planejamento Doehlert para duas variáveis foi aplicado. A temperatura de extração foi estudada em cinco níveis (60, 65, 70, 75 e 80°C) e o tempo de extração em três níveis (40, 50 e 60 min).

Todas as análises foram realizadas em frascos de 40 mL, 25 mL de infusão herbal, agitação magnética constante e com amostragem pelo contato direto da fibra de SPME com a solução amostra. A otimização foi realizada com uma infusão de camomila enriquecida com 250 ng L⁻¹ de cada pesticida.

7.4. Resultados e discussões

A partir das respostas cromatográficas calculou-se a média geométrica a fim de obter um compromisso entre os nove pesticidas avaliados. Com a média geométrica foi possível construir um gráfico de Pareto, ilustrado na Figura 30. O gráfico de Pareto ilustra a significância de cada variável (efeito principal) e a significância da interação entre elas (efeito secundário), o qual é denominado pela multiplicação das variáveis (1x2, 2x3).

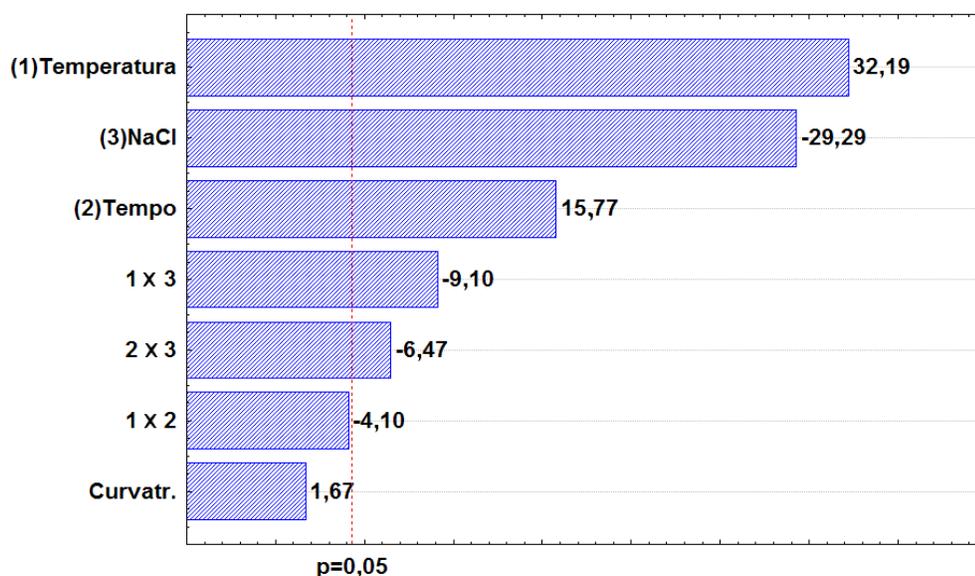


Figura 30. Gráfico de Pareto obtido por um planejamento fatorial completo para otimização das variáveis e suas interações na extração de pesticidas em infusões herbais. $R^2 = 0,9991$.

Todas as três variáveis estudadas foram estatisticamente significativas em um nível de confiança de 95% como indicado pelo gráfico de Pareto na Figura 30. Visto que o parâmetro curvatura não é significativo, pode-se assumir que a resposta é aproximadamente linear na faixa estudada. Assim, como o menor nível da variável força iônica foi zero (sem adição) e o efeito principal desta variável foi significativo com um valor negativo, pode-se concluir que melhores respostas são obtidas quando nenhuma quantidade de sal é adicionada ao sistema. Esta observação ajuda na interpretação dos efeitos de

interação em relação a variável força iônica, isto é, fixando esta variável em seu nível mais baixo é possível interpretar os efeitos de outras variáveis na interação em questão. Temperatura e tempo de extração mostraram significância e valores positivos, indicando uma maior resposta no maior nível estudado (70 °C e 40 minutos, respectivamente). O valor negativo é significativo para o efeito de interação entre a adição de sal e a temperatura de extração (1x3) e entre adição de sal e tempo de extração (2x3) também confirmam maiores respostas quando maior nível, tanto para tempo quanto para temperatura de extração, é usado. Assim, para a próxima etapa de otimização, nenhuma quantidade de sal foi adicionado ao sistema, e as variáveis temperatura e tempo de extração foram simultaneamente estudadas através de uma matriz Doehlert. A temperatura foi estudada em cinco níveis (60, 65, 70, 75 e 80 °C) e o tempo de extração estudado em três níveis (40, 50 e 60 min).

A partir da média geométrica para os nove compostos construiu-se a superfície de resposta apresentada na Figura 31.

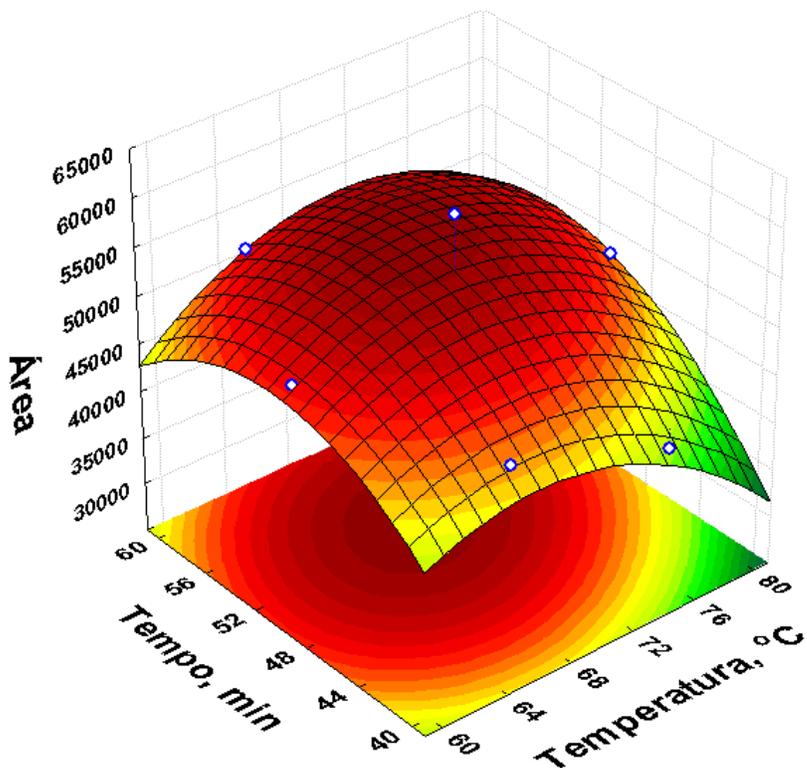


Figura 31. Superfície de resposta obtida a partir do planejamento Doehlert para duas variáveis na determinação de pesticidas em infusões herbais. $R^2 = 0,75736$.

A partir das derivadas parciais da equação da superfície:

$$R = -284751,1 + 6581,1x - 59,1x^2 + 4205,8y - 60,1y^2 + 31,2xy,$$

foi calculado o ponto crítico da função: $x = 69,9$ e $y = 53,0$, sendo que R , x e y correspondem a resposta, temperatura e tempo de extração respectivamente. Assim, nenhuma adição de sal, temperatura de 70°C e 50 minutos para o tempo de extração foram fixados para este método.

✎ *Avaliação do desempenho do método para pesticidas*

O desempenho da fibra NiTi-ZrO₂-PDMS na extração de pesticidas em infusões herbais foi verificada pela obtenção dos parâmetros analíticos de mérito a partir dos parâmetros otimizados. Alguns dos parâmetros de mérito são apresentados na Tabela 11.

Tabela 11 . Faixa linear, coeficientes de correlação, limites de detecção e quantificação obtidos pelo método para a determinação de pesticidas em infusões herbais usando a fibra NiTi-ZrO₂-PDMS.

Compostos	Faixa linear ^a	R ^b	LD ^c , ng L ⁻¹	LQ ^c , ng L ⁻¹
Heptaclor	20 – 500	0,9981	6,9	20,9
Aldrin	5 – 500	0,9996	2,0	6,1
Heptaclor epóxido	10 – 500	0,9998	4,3	13,0
Endosulfan I	50 – 500	0,9981	17,2	51,6
<i>p,p'</i> -DDE	5 – 500	0,9999	1,4	4,1
Dieldrin	5 – 500	0,9996	2,2	6,6
Endrin	20 – 500	0,9994	6,1	18,2
Endosulfan II	40 – 500	0,9998	12,7	38,1
<i>p,p'</i> -DDD	10 – 500	0,9988	2,9	8,6

^a faixa linear de trabalho em ng L⁻¹; ^b coeficiente de correlação da curva de calibração; ^c limite de detecção; ^d limite de quantificação.

Ótimos coeficientes de correlação foram obtidos na faixa linear estudada, sendo maiores que 0,9981. Os limites de detecção obtidos são satisfatórios, sendo semelhantes a outros trabalhos já publicados na determinação de pesticidas em infusões herbais. Campillo *et. al.* [115] empregando SPME e análise por cromatografia a gás com detecção por emissão atômica obtiveram limites de detecção de 0,04 ng mL⁻¹ para aldrin e dieldrin e 0,03 ng mL⁻¹ para *p,p'*-DDE e *p,p'*-DDD. Zuin *et. al.* [116] obtiveram limites de detecção de 0,01 ng mL⁻¹ (α -endosulfan) a 1,5 ng mL⁻¹ (malathion), analisando estes compostos em infusões de três espécies diferentes de *Plassiflora, L.* utilizando SPME e GC-ECD. Cai *et al.* [60] obtiveram limites de

detecção na faixa de 0,019 a 0,077 ng L⁻¹ na investigação de pesticidas em chás chineses empregando SPME e GC-ECD.

A precisão do método foi avaliada através de oito extrações consecutivas de uma infusão enriquecida com 100 ng L⁻¹, apresentando valores de desvio padrão relativo na faixa de 3,3 a 10,3%. A reprodutibilidade do preparo das fibras de SPME também foi avaliada empregando quatro diferentes fibras, no qual o desvio padrão relativo encontrado envolveu a faixa de 4,4 a 12,1%.

☞ *Infusões herbais*

A metodologia otimizada foi aplicada na extração de pesticidas em infusões de Hortelã (*Mentha piperita*, L.), Cidreira (*Cymbopogon citratus*, Stapf), Camomila (*Matricaria recutita*, L.), Melissa (*Melissa Officinalis*, L.) e Erva Doce (*Pimpinella anisum*, L.).

Como pode ser visualizado na Tabela 12, nas amostras de *Mentha piperita*, L., *Matricaria recutita*, L. e *Melissa Officinalis*, L. pode-se quantificar três dos nove pesticidas investigados: aldrin, *p,p'*-DDE e *p,p'*-DDD. Na amostra de *Cymbopogon citratus*, Stapf quantificou-se aldrin, *p,p'*-DDE e endosulfan II. Na amostra de *Pimpinella anisum*, L. foi verificado apenas a presença de *p,p'*-DDD.

Tabela 12. Concentrações em ng L⁻¹ de pesticidas nas cinco infusões investigadas.

	<i>Mentha piperita</i> , L.	<i>Cymbopogon citratus</i> , Stapf	<i>Matricaria recutita</i> , L.	<i>Melissa Officinalis</i> , L.	<i>Pimpinella anisum</i> , L.
Aldrin	15,8 ± 1,6	6,0 ± 0,8	17,1 ± 2,0	15,4 ± 2,0	-
<i>p,p'</i> -DDE	57,2 ± 2,8	14,9 ± 1,1	32,3 ± 1,3	36,8 ± 1,8	-
Endosulf. II	-	66,9 ± 1,6	-	-	-
<i>p,p'</i> -DDD	50,8 ± 9,5	-	5,5 ± 0,4	24,1 ± 2,6	14,9 ± 0,5

Os valores encontrados nas infusões investigadas estão abaixo do que regulamenta o Ministério da Saúde do Brasil, Portaria nº 518, de 25 de março de 2004, que estabelece os procedimentos e responsabilidades relativos ao controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade [117].

Para investigar a exatidão da metodologia proposta, as cinco diferentes amostras foram enriquecidas em dois diferentes níveis 100 e 200 ng L⁻¹. Os dados estão apresentados na Tabela 13, e foram considerados satisfatórios. Estes resultados indicam que a infusão preparada com camomila (*Matricaria recutita*, L.) usada como matriz no processo de calibração pode ser efetivamente usada na quantificação das diferentes infusões avaliadas.

Tabela 13. Valores de recuperações avaliados pelo enriquecimento das diferentes infusões investigadas em dois níveis de concentrações.

Adição, ng L ⁻¹	Recuperação, %				
	<i>Mentha piperita</i> , L.	<i>Cymbopogon citratus</i> , Stapf	<i>Matricaria recutita</i> , L.	<i>Melissa Officinalis</i> , L.	<i>Pimpinella anisum</i> , L.
<i>Heptachlor</i>					
100	94 ± 3	102 ± 2	108 ± 2	115 ± 3	121 ± 5
200	110 ± 1	105 ± 4	92 ± 4	108 ± 4	118 ± 4
<i>Aldrin</i>					
100	90 ± 7	78 ± 2	111 ± 4	101 ± 6	86 ± 5
200	108 ± 4	84 ± 5	99 ± 5	108 ± 5	82 ± 4
<i>Hept.epox.</i>					
100	111 ± 5	118 ± 3	108 ± 4	116 ± 4	105 ± 6
200	121 ± 3	110 ± 6	102 ± 4	111 ± 6	112 ± 3
<i>Endosulf. I</i>					
100	112 ± 4	84 ± 4	86 ± 6	94 ± 3	81 ± 4
200	116 ± 4	74 ± 5	91 ± 3	106 ± 5	91 ± 3
<i>p,p'-DDE</i>					
100	107 ± 5	110 ± 4	99 ± 4	93 ± 2	87 ± 6
200	94 ± 4	102 ± 5	109 ± 4	103 ± 3	99 ± 3
<i>Dieldrin</i>					
100	121 ± 3	95 ± 5	108 ± 4	118 ± 4	100 ± 7
200	122 ± 2	107 ± 6	112 ± 3	119 ± 3	109 ± 5
<i>Endrin</i>					
100	119 ± 3	85 ± 4	93 ± 5	108 ± 7	93 ± 5
200	108 ± 6	81 ± 4	106 ± 4	120 ± 4	88 ± 4
<i>Endosulf. II</i>					
100	111 ± 3	79 ± 4	88 ± 2	110 ± 4	91 ± 7
200	106 ± 6	84 ± 4	99 ± 4	107 ± 5	95 ± 4
<i>p,p'-DDD</i>					
100	79 ± 2	99 ± 4	100 ± 6	110 ± 4	78 ± 2
200	84 ± 4	87 ± 4	113 ± 4	114 ± 3	86 ± 5

☞ *Comparação da fibra NiTi-ZrO₂-PDMS com fibras de PDMS comerciais*

A eficiência de extração da fibra NiTi-ZrO₂-PDMS na extração de BTEX e pesticidas foi comparada a eficiência das fibras de PDMS comercialmente disponíveis, 100, 30 e 7 µm. Para pesticidas a extração foi realizada usando a infusão de *Matricaria recutita*, L.enriquecida com 200 ng L⁻¹ de cada pesticida, com extração a 70°C por 50 minutos. Para BTEX a concentração empregada neste estudo foi 50 µg L⁻¹, 6 g de NaCl e extração a 6°C por 15 minutos.

Segundo Chong et al [2] a situação é significativamente diferente para PDMS recoberto por processo sol-gel. Um dos motivos é que as moléculas individuais do PDMS hidroxil terminal usado em recobrimentos sol-gel contém grupos silanóis terminais os quais estão ausentes em moléculas de PDMS usadas em recobrimentos convencionais. Como pode ser observado na Figura 32, a fibra NiTi-ZrO₂-PDMS mesmo possuindo espessura de recobrimento de 25 µm, apresentou uma performance de extração superior, para muitos compostos, ou semelhante ao perfil de extração da fibra de 30 µm comercial.

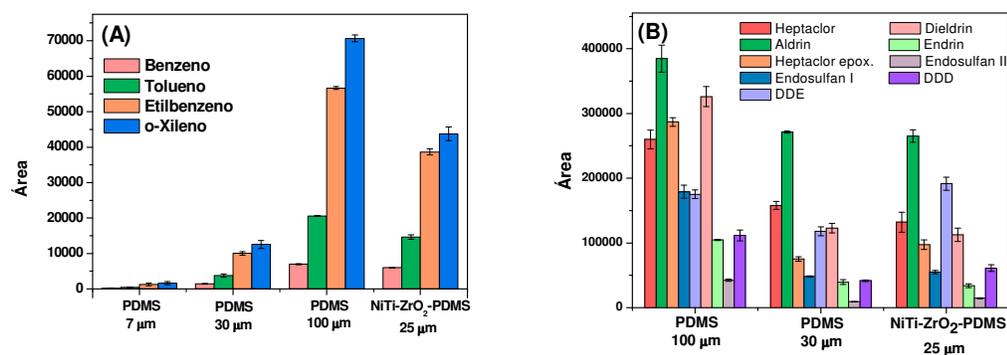


Figura 32. Comparação da fibra NiTi-ZrO₂-PDMS com fibras de PDMS comercialmente disponíveis. (A) BTEX e (B) pesticidas.

7.5. Conclusões parciais

A aplicabilidade da nova fibra de SPME, NiTi-ZrO₂-PDMS, foi demonstrada através da determinação de pesticidas em infusões herbais, onde ótimos limites de detecção foram obtidos. A fibra manteve a sua capacidade de extração por mais de 450 extrações. A habilidade de extração da fibra proposta foi comparável à fibra comercial de PDMS 30 µm avaliada, tanto na extração de pesticidas em infusões herbais quanto para BTEX em amostras aquosas.

Capítulo 8

Nova fibra de PEG empregando a liga de NiTi zirconizada como substrato para reações sol-gel ⁸

8.1. Introdução

Recobrimentos por processos sol-gel oferecem importantes vantagens como alta estabilidade térmica, estrutura de poros e alta área superficial, e um alto grau de flexibilidade na composição da superfície. Pela variação na proporção dos ingredientes na solução sol ou usando um reagente desativante, é possível mudar a composição do filme e obter assim diferentes selectividades.

Neste trabalho, usou-se o polímero polietileno glicol (PEG) como um ingrediente na solução sol para preparar uma nova fibra de SPME. Esta nova fibra foi aplicada na extração de compostos polares e pouco polares como forma de avaliar a sua capacidade e eficiência de extração.

8.2. Objetivo

Aplicar o polietilenoglicol (PEG) como recobrimento para fibras de SPME por processo sol-gel, usando como substrato a liga NiTi eletroliticamente recoberta com ZrO₂. Aplicar a nova fibra metálica recoberta

⁸ Publicado em *Journal of Chromatography A*, 1198-1199 (2008) 54-58

com PEG na extração de halofenóis em água por amostragem a partir do headspace da amostra e ftalatos em água por amostragem direta.

8.3. Parte experimental

✎ Instrumentação

As análises cromatográficas foram realizadas em cromatógrafo a gás modelo Shimadzu GC-14B, equipado com injetor split/splitless. Os detectores utilizados neste trabalho foram FID para análise de ftalatos e ECD para a análise de halofenóis. As separações cromatográficas para as duas classes foram realizadas em coluna capilar OV-5 (30m x 0,25mm x 0,25 μ m; OV Specialty Chemical, Marietta, OH). Nitrogênio ultrapuro foi usado como gás carreador e make-up. A programação de temperatura do forno foi 80°C (2 min); 18°C min⁻¹ até 200°C; 10°C min⁻¹ até 280°C (2min) para ftalatos e 60°C (1 min); 20°C min⁻¹ até 130°C; 10°C min⁻¹ até 175°C (1 min); 1°C min⁻¹ até 181°C; 40°C min⁻¹ até 280°C (2 min) para halofenóis. A temperatura do injetor e detector fixada em 280°C e 300°C, respectivamente.

A morfologia e composição das fibras, com e sem recobrimento de PEG, foram avaliadas por microscopia eletrônica de varredura (SEM), através de microscópio Philips XL-30, e micro-análise semi-quantitativa por dispersão de energia (EDS).

✎ Reagentes para SPME

Soluções estoques de halofenóis incluindo triclorofenol e tribromofenol (Sigma-Aldrich) foram preparadas pela diluição em acetona (Tedia). As soluções de trabalho foram preparadas pela diluição das soluções estoque em água deionizada de um sistema Milli-Q (Millipore, Bedford, MA, USA). Padrões de esteres de ftalato incluindo di-*n*-butil ftalato (DnBP), butil benzil ftalato (BBP), bis(2-etilhexil) adipato (DEHA), bis(2-etilhexil) ftalato (DEHP) (Supelco, Bellefonte, PA, USA) foram preparados em metanol grau HPLC (Tedia).

Os reagentes sol-gel usados na preparação das fibras NiTi-ZrO₂-PEG foram: metiltrimetoxisilano – MTMS (UCT, Bristol, PA, USA), trimetilmetoxisilano – TMMS, poli(etilenoglicol)metil eter (Sigma-Aldrich, Milwaukee, WI, USA) e ácido trifluoroacético – TFA (Vetec).

✎ *Eletrodeposição*

Fios de NiTi com 0,2 mm de espessura e aproximadamente 2 cm de comprimento foram usados como suportes para eletrodeposição. Apenas 1 cm foi eletrodepositado com ZrO₂. As condições de eletrodeposição utilizadas neste trabalho são iguais as condições usadas para eletrodepositar os fios de NiTi com 0,3 mm de espessura, descritas previamente ⁹.

✎ *Preparação das fibras metálicas de PEG por processo sol-gel*

A ativação dos fios de NiTi foi realizada como descrito anteriormente para o recobrimento com PDMS ¹⁰.

A solução sol de PEG foi preparada com 400 µL de metiltrimetoxisilano, 800 mg de poli(etilenoglicol)metil eter e 500 µL de TFA 95% (contendo 5% de água) em tubos capilares de vidro. Um centímetro das fibras ativadas de NiTi-ZrO₂ foram verticalmente imersas em uma solução sol límpida por aproximadamente 40 minutos. Este procedimento foi repetido 5 vezes, sempre com uma solução sol recém preparada. Três fibras foram preparadas exatamente da mesma forma, porém, usando como suporte um fio de NiTi não zirconizado (sem ZrO₂). Todas as fibras foram montadas em aparatos de SPME comerciais e condicionadas por 4 horas diretamente no injetor do GC a 250 °C.

⁹ Ver Capítulo 3

¹⁰ Ver Capítulo 6

✎ *Estratégias de otimização*

Os halofenóis foram analisados em sua forma derivatizada, cujas condições ótimas de derivatização foram obtidas em estudo anterior¹¹. Um planejamento fatorial em dois níveis foi realizado, incluindo temperatura de extração (40 e 70°C), tempo de extração (15 e 35 min) e força iônica pela adição de cloreto de sódio (3 e 7 g). Três replicatas no ponto central foram incluídas no planejamento. De acordo com os resultados obtidos pelo planejamento experimental. Um planejamento Doehlert para duas variáveis foi aplicado. A temperatura de extração foi estudada em cinco níveis (35, 40, 45, 50 e 55°C) e o tempo de extração em três níveis (20, 30 e 40 min). Todas as análises foram realizadas em frascos de 40 mL, 20 mL de amostra, agitação magnética constante e com amostragem a partir do headspace da amostra. A otimização foi realizada com uma solução contendo 250 ng L⁻¹ de TCP e 200 ng L⁻¹ de TBP.

Para a otimização de ftalatos, um planejamento fatorial em dois níveis foi realizado, incluindo temperatura de extração (40 e 80°C), tempo de extração (10 e 40 min) e força iônica pela adição de cloreto de sódio (0 e 4 g). A única variável significativa foi o tempo de extração, sendo estudado univariadamente de 5 a 60 min. As análises foram realizadas em frascos de 40 mL, 25 mL de amostra, agitação magnética constante e com amostragem a partir do contato direto com a amostra. A otimização foi realizada com uma solução contendo 30 µg L⁻¹ de cada ftalato.

8.4. Resultados e discussões

Novamente o suporte NiTi-ZrO₂ foi ativado com soluções de hidróxido de sódio 1,0 mol L⁻¹ e posterior solução de ácido clorídrico 0,5 mol L⁻¹, e submetido a três etapas de recobrimento por reações sol-gel aplicando agora polietilenoglicol como polímero de recobrimento.

¹¹ Ver resultados e discussões, Capítulo 4

✂ Caracterização da fibra NiTi-ZrO₂-PEG

A Figura 33 mostra as micrografias obtidas por SEM para duas fibras preparadas por processo sol-gel, uma com suporte zirconizado e outra sem o filme de ZrO₂.

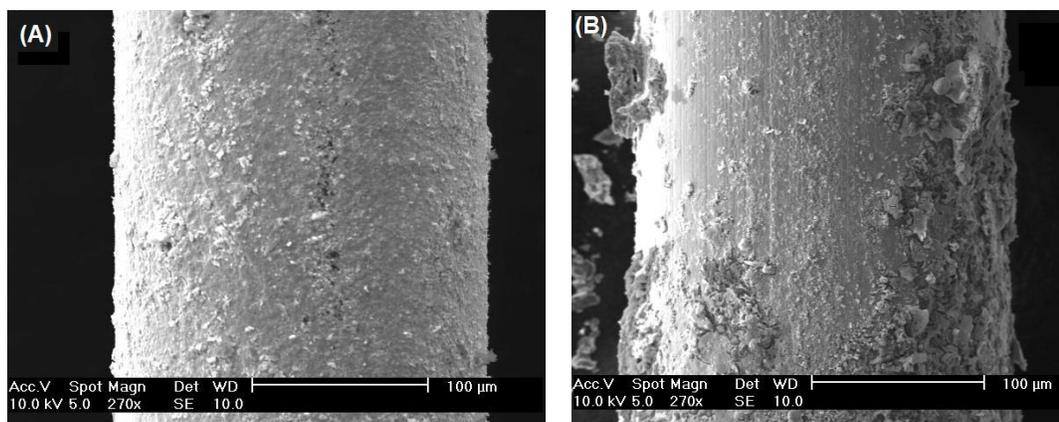


Figura 33. Micrografias para fibras de PEG preparadas por processo sol-gel em (A) suporte zirconizado e (B) suporte sem ZrO₂. Ampliação 270x.

Como pode verificado na Figura 33A, a superfície de PEG da fibra zirconizada é muito mais uniforme e homogênea se comparada à superfície da fibra sem o filme de zircônio (Figura 33B). Isto se deve, provavelmente, ao fato de que apenas a liga NiTi não oferece uma superfície apropriada para ocorrer reações químicas eficientes. Ao contrário a fibra eletrodepositada (especialmente depois da ativação) que proporciona uma superfície com grupos Zr-OH os quais favorecem reações químicas entre o suporte e o recobrimento polimérico. A espessura média do filme de PEG foi calculada comparando micrografias da fibra com e sem recobrimento, resultando em uma média de $17 \pm 3 \mu\text{m}$.

A avaliação química da superfície da fibra proposta foi realizada através de EDS e o resultado é ilustrado na Figura 34. A fibra utilizada para a análise de EDS foi previamente utilizada por mais de 200 extrações. O espectro

apresenta um pico em aproximadamente 0,2 keV atribuído a linha de emissão $K\alpha$ do carbono e um pico a 1,8 keV que foi atribuído a linha de emissão $K\alpha$ do silício. Estes elementos são característicos de recobrimentos com PEG. A partir destes resultados obtidos por EDS, é possível obter informações qualitativas sobre a composição da fibra em escala microscópica.

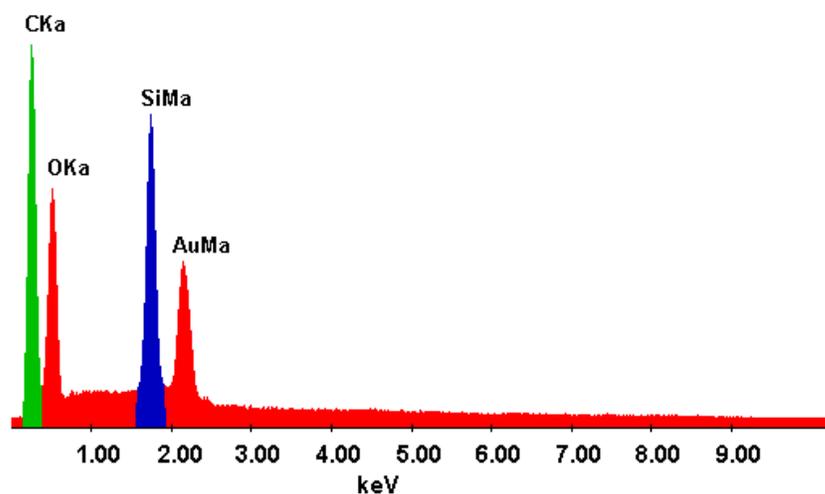


Figura 34. Microanálise por energia dispersiva da superfície da fibra NiTi-ZrO₂-PEG.

✂ *Avaliação da fibra NiTi-ZrO₂-PEG: estabilidade térmica*

A estabilidade térmica do recobrimento de PEG foi avaliada utilizando o injetor do cromatógrafo a gás e a faixa de temperatura investigada foi de 230 a 320 °C. A extração para ambas as classes foi realizada por um tempo de 30 minutos a 40 °C em frasco de 40 mL, contendo 20 mL de solução aquosa para amostragem a partir do headspace (halofenóis) e 25 mL de solução aquosa para amostragem direta (ftalatos). Cinco replicatas foram realizadas em cada temperatura, fixando o tempo de permanência da fibra no injetor do cromatógrafo em 10 minutos. A média de valores encontrados nas diferentes temperaturas foram normalizadas em relação à temperatura em que a fibra foi condicionada (250 °C). Estes resultados são apresentados na Tabela 14.

Tabela 14 . Avaliação da estabilidade térmica da fibra NiTi-ZrO₂-PEG. Média das áreas cromatográficas normalizadas a temperatura de 250 °C.

	230 °C	250 °C	270 °C	300 °C	320 °C
<i>Halofenóis</i>	0,85	1,00	1,28	1,24	1,30
<i>Ftalatos</i>	0,81	1,00	1,19	1,04	1,19

Nenhuma perda de polímero foi observada até 320 °C. De fato, verifica-se até um pequeno acréscimo de sinal em temperaturas maiores. Estes resultados sugerem a presença de ligações químicas entre o suporte metálico eletrodepositado e a camada polimérica, resultando em uma maior estabilidade térmica, importante tanto para melhorar a forma dos picos cromatográficos quanto para eliminar efeitos de memória. Para estudos posteriores o tempo de dessorção foi fixado em 3 minutos e a temperatura de dessorção fixada em 300 °C, com os quais não se observou efeito de memória.

✎ *Avaliação da fibra NiTi-ZrO₂-PEG: extração de halofenóis em amostras aquosas.*

A fibra NiTi-ZrO₂-PEG foi aplicada na extração de 2,4,6-triclorofenol e 2,4,6-tribromofenol em suas formas acetil-derivatizadas de uma matriz aquosa, com amostragem no headspace da amostra. A otimização das condições de extração foram inicialmente estudadas por planejamento fatorial completo em dois níveis no qual as variáveis investigadas foram temperatura (40 – 70 °C), força iônica pela adição de NaCl (3 – 7 g para 20 mL de amostra) e tempo de extração (15 – 35 min). Com a média geométrica, das respostas para os dois halofenóis, um gráfico de Pareto foi construído e é apresentado na Figura 35.

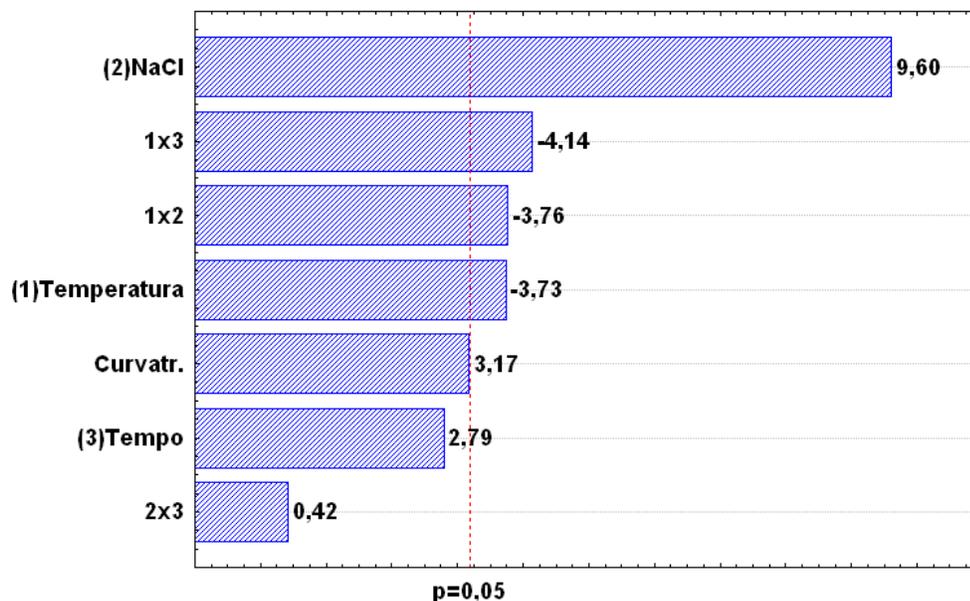


Figura 35. Gráfico de Pareto obtido através de um planejamento fatorial completo para os halofenóis TCP e TBP em suas formas acetil-derivatizadas.

Como pode ser observado através da Figura 35, os únicos efeitos principais estatisticamente significativos foram temperatura e força iônica. Dois efeitos de interação secundários foram estatisticamente significativos, temperatura e tempo (1x3), temperatura e força iônica (1x2). A curvatura está no limite de ser estatisticamente significativa, isto é, muito provavelmente a resposta não é linear na faixa avaliada, e uma otimização final é necessária utilizando um planejamento de segunda ordem, como metodologia por superfície de resposta. Como a força iônica mostrou-se grandemente significativa em comparação com os outros efeitos significativos, esta variável foi fixada em seu nível máximo avaliado no planejamento fatorial, isto é, 7 g de NaCl para 20 mL de amostra. As variáveis temperatura e tempo de extração foram melhores estudadas pela metodologia de superfície de resposta utilizando a matriz Doehlert. A temperatura foi avaliada em cinco níveis (35, 40, 45, 50 e 55°C) e o tempo de extração em três níveis (20, 30 e 40 minutos). A superfície de resposta obtida é ilustrada na Figura 36.

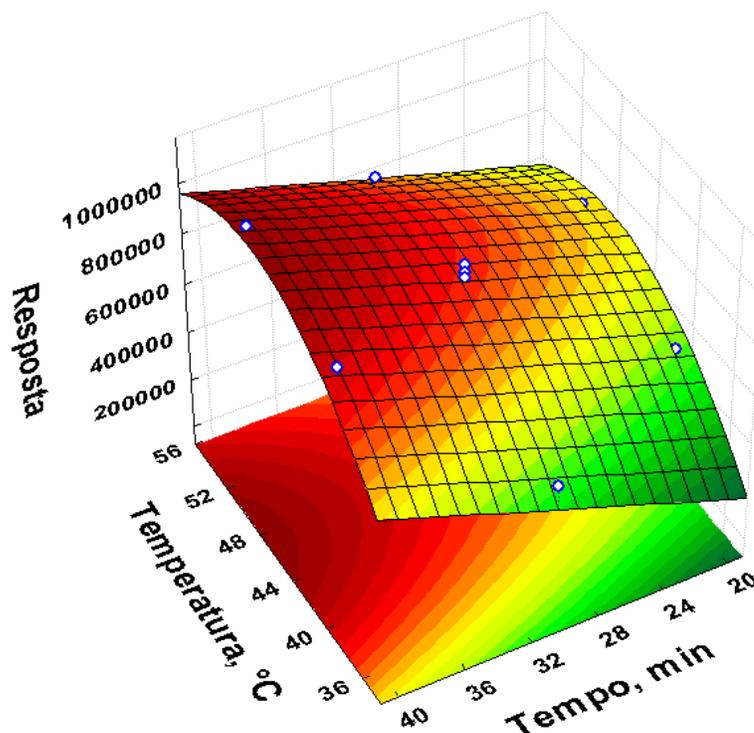


Figura 36. Superfície de resposta obtida pela matriz Doehlert para duas variáveis na extração de TCP e TBP em suas formas acetil-derivatizadas.

A partir da superfície de resposta (Figura 36), a qual tem um coeficiente de correção quadrático (R^2) de 0,99044, foram obtidos os pontos ótimos das variáveis, 40 minutos para o tempo de extração e 48°C para a temperatura de extração.

✎ *Avaliação da fibra NiTi-ZrO₂-PEG: extração de ftalatos em amostras aquosas.*

A fibra NiTi-ZrO₂-PEG também foi empregada na análise de esteres de ftalatos em amostra aquosa onde a amostragem foi realizada com o contato direto da fibra de PEG com a solução amostra devido à baixa volatilidade destes analitos. Um planejamento fatorial completo em dois níveis foi utilizado para otimizar temperatura (40 – 80°C), força iônica pela adição de NaCl (0 – 4 g para 25 mL de amostra) e tempo de extração (10 – 40 min). Um ponto central

em triplicata foi incluso no planeamento. A partir da média geométrica um gráfico de Pareto foi construído e é apresentado na Figura 37.

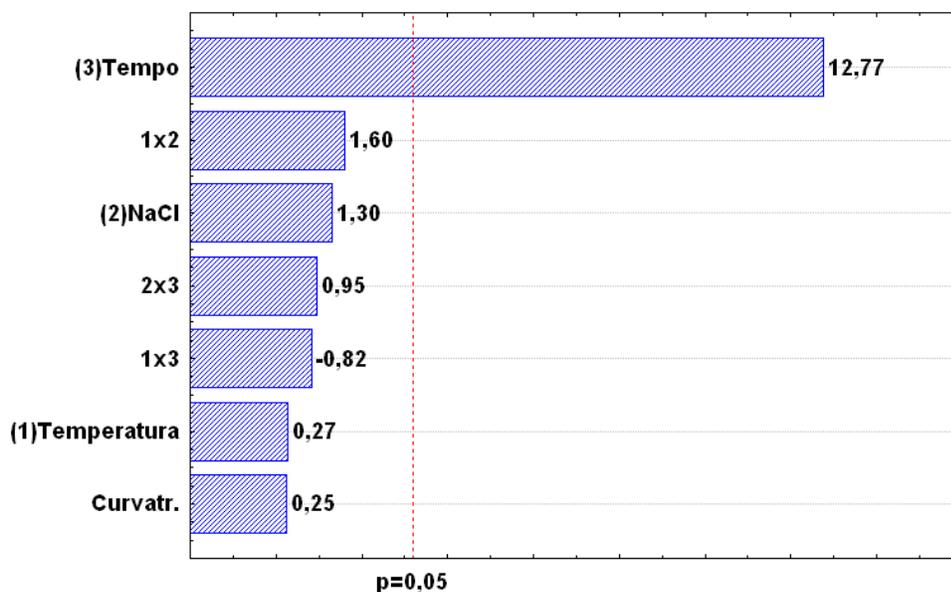


Figura 37. Gráfico de Pareto obtido através de um planejamento fatorial completo para esteres de ftalato.

Apenas um efeito principal foi estatisticamente significativo, como mostra a Figura 37. Assim, a força iônica da solução não foi alterada, ou seja, não foi adicionado NaCl ao sistema e a temperatura de extração foi fixada para estudos posteriores em 50°C. A variável tempo de extração foi avaliada individualmente no intervalo de 5 a 60 minutos. Observou-se que a partir de 30 minutos não houve um ganho no sinal analítico para a maioria dos compostos avaliados assim, este foi o tempo de extração empregado para a metodologia.

✎ Avaliação do desempenho do método.

Os limites de detecção e quantificação (3 e 10 vezes a razão sinal ruído, respectivamente), faixa linear de trabalho e coeficientes de correlação para as metodologias propostas empregando a nova fibra de PEG, estão apresentados na Tabela 15.

Tabela 15 . Faixa dinâmica de trabalho, coeficientes de correlação e limites de detecção e quantificação para halofenóis e ftalatos utilizando a fibra NiTi-ZrO₂-PEG.

Halofenóis	Faixa linear ^a	R ^c	LD ^d , ng L ⁻¹	LQ ^e , ng L ⁻¹
TCP	30 – 750	0,999	9,8	32,7
TBP	10 – 700	0,997	1,2	4,0
Ftalatos	Faixa linear ^b	R ^c	LD ^d , µg L ⁻¹	LQ ^e , µg L ⁻¹
DnBP	2 – 150	0,999	0,59	1,97
BBP	2 – 150	0,998	0,75	2,49
DEHA	1 – 150	0,999	0,39	1,30
DEHP	1 – 150	0,999	0,35	1,16

^a faixa linear de trabalho em ng L⁻¹; ^b faixa linear de trabalho em µg L⁻¹; ^c coeficiente de correlação da curva de calibração; ^d limite de detecção; ^e limite de quantificação.

Ótimos coeficientes de correlação (maiores que 0,997) e satisfatórios limites de detecção foram obtidos para ambas metodologias. A repetitividade do método, utilizando uma única fibra (n = 6), variou na faixa de 5,4 a 10,6% para ftalatos e 4,6 a 5,8% para halofenóis. E a reprodutibilidade avaliando cinco diferentes fibras, foi menor que 12,3%, demonstrando uma satisfatória reprodutibilidade na confecção das fibras.

8.5. Conclusões parciais

A nova fibra de SPME, NiTi-ZrO₂-PEG, foi eficientemente aplicada na extração de halofenóis e ftalatos em amostras aquosas, onde ótimos limites de detecção foram obtidos. Uma excelente estabilidade térmica foi observada até 320°C, sugerindo a presença de ligações químicas entre o substrato e o recobrimento polimérico.

Capítulo 9

Aplicação da fibra NiTi-ZrO₂-PEG na determinação de haloanisóis em rolha de cortiça¹²

9.1. Introdução

Um dos problemas mais sérios da indústria de vinho é a mudança indesejável nas propriedades organolépticas do vinho devido a seu contato com a cortiça contaminada (chamada também taint da cortiça) [118] Essa contaminação é responsável por grandes perdas econômicas na indústria do vinho e da cortiça [119].

Diversas substâncias, tais como o geosmin, 2-metil-isoborneol, guaiacol, 1-octen-3-one, 1-octen-3-ol e clorofenóis foram relatadas como responsáveis para este defeito organoléptico. [120]. Entretanto, os compostos principalmente responsáveis por este odor são: 2,4,6- triclороанisol (TCA), 2,3,4,6-tetraclороанisol (TeCA), pentaclороанisol (PCA) e 2,4,6-tribromoанisol (TBA) [121].

Os valores relatados para o ponto inicial sensorial para o TCA no vinho variaram consideravelmente na literatura de 1,4 ng L⁻¹ a 210 ng L⁻¹. O ponto inicial sensitivo para o TBA no vinho foi relatado como 7,9 ng L⁻¹ [122].

¹² Publicado em *Analytica Chimica Acta*, 629 (2008) 92-97

Estes compostos também conhecidos como off-flavour estão presentes nas rolhas de cortiça em níveis baixos (nanograma por grama de cortiça). Conseqüentemente, é necessário desenvolver métodos analíticos sensíveis para determinar estes compostos diretamente nestas amostras sólidas [100].

9.2. *Objetivo*

Verificar e ampliar a aplicabilidade da nova fibra robusta de SPME recoberta por processo sol-gel com PEG, na análise de haloanisóis em amostras de cortiça.

9.3. *Parte experimental*

✎ Instrumentação

As condições cromatográficas são iguais às aplicadas na análise de halofenóis em amostras aquosas¹³. A temperatura do injetor e detector foi fixada em 290 °C e 300 °C, respectivamente.

✎ Reagentes para SPME

Padrões de haloanisóis, 2,4,6-tricloroanisol, 2,4,6-tribromoanisol e pentacloroanisol (Sigma-Aldrich, Milwaukee, WI, EUA) foram preparados em acetona grau HPLC (Tedia, Fairfield, OH, USA). Cloreto de sódio (Nuclear, Diadema, SP) foi utilizado para aumentar a força iônica.

✎ Amostras de cortiça

Amostras de cortiça foram trituradas e partículas menores que 1 mm foram selecionadas para análise. As amostras foram estocadas em frascos

¹³ Ver Capítulo 4

ambar a 5°C antes da análise. Para a otimização do método, as amostras foram enriquecidas com 300 ng g⁻¹ de 2,4,6-tricloroanisol, 200 ng g⁻¹ de 2,4,6-tribromoanisol e pentacloroanisol e encubadas em frascos ambar fechados por aproximadamente 72 horas, para interação dos analitos com a amostra.

✎ *Estratégias de otimização*

As condições que influenciam a extração dos haloanisóis foram previamente avaliadas por planejamento fatorial completo (2⁴) onde estudou-se quatro fatores em dois níveis. As variáveis avaliadas foram temperatura de extração (40 e 70°C), força iônica pela adição de cloreto de sódio (0 e 3 g), tempo de extração (10 e 30 minutos) e massa de amostra (100 e 200 mg de cork) com a inclusão de um ponto central em duplicata. Posteriormente, foi aplicada uma metodologia de superfície de resposta empregando matriz Doehlert, onde avaliou-se massa da amostra em cinco níveis (10, 35, 60, 85 e 110 mg) e temperatura de extração em três níveis (60, 70 e 80°C). As análises foram realizadas em frascos de 40 mL, no qual a massa de cortiça pesada era acrescida de 20 mL de água deionizada, com agitação magnética e extração a partir do headspace da amostra.

9.4. Resultados e discussões

A otimização foi realizada por método multivariado, empregando primeiramente um planejamento fatorial completo para avaliar a significância das variáveis individuais bem como as interações entre as mesmas. O planejamento empregado foi 2⁴, avaliando temperatura de extração, força iônica pela adição de cloreto de sódio, tempo de extração e massa de amostra (cortiça).

A partir das respostas cromatográficas, calculou-se a média geométrica a fim de criar um compromisso de resposta para os três compostos avaliados.

A partir da média geométrica construiu-se um gráfico de Pareto, ilustrado na Figura 38.

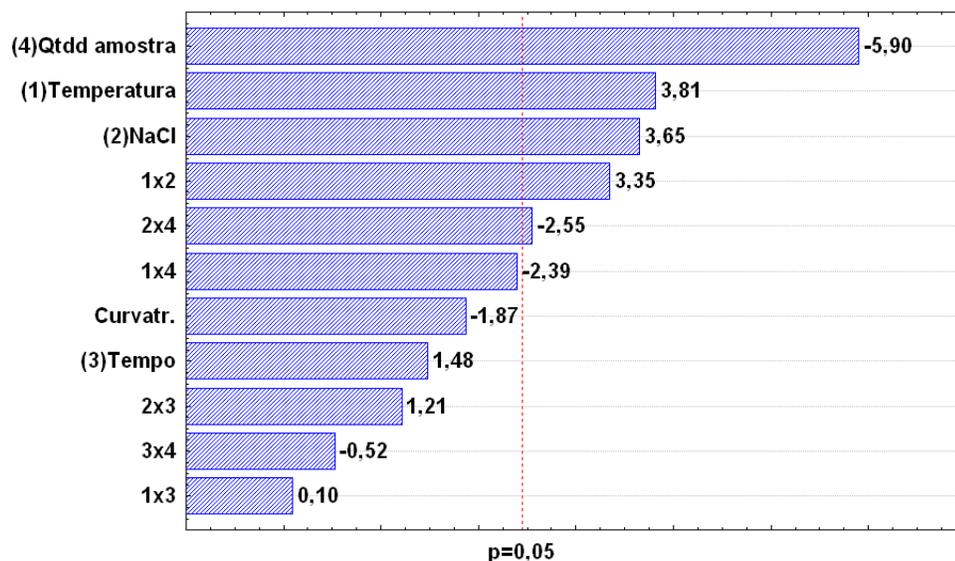


Figura 38. Gráfico de Pareto obtido por um planejamento fatorial completo na otimização das variáveis e interações para haloanisóis.

Como observado (Figura 38), a variável com maior significância é a massa de amostra, a qual possui um sinal algébrico negativo indicando um aumento na resposta analítica ao se trabalhar com esta variável no menor nível avaliado. Devido à baixa densidade da amostra, partículas de cortiça se posicionam na superfície da solução, mesmo com uma eficiente agitação. Supõe-se que grandes quantidades de amostra criam uma barreira que dificulta a passagem dos analitos para o headspace. As variáveis temperatura de extração e força iônica também apresentaram significância estatística possuindo sinais algébricos positivos, indicando um aumento de resposta ao se trabalhar em seus níveis máximos avaliados. Duas interações entre variáveis foram observadas, temperatura e força iônica (1x2) e força iônica e massa de amostra (2x4). Esta última interação citada possui um sinal algébrico negativo (- 2,55) indicando um efeito antagônico entre essas duas variáveis. E a variável tempo de extração não apresentou significância estatística na faixa avaliada.

Para uma otimização mais apurada, uma metodologia de superfície de resposta foi empregada na qual a variável tempo de extração foi fixada em 20 minutos e para simplificação, a variável força iônica também foi fixada optando-se pela adição de 3 g de cloreto de sódio, visto que o gráfico de Pareto mostra uma maior resposta analítica neste nível.

Como metodologia de superfície de resposta, empregou-se a matriz Doehlert para duas variáveis. Estudou-se a massa de amostra em cinco níveis (10, 35, 60, 85 e 110 mg) e temperatura de extração em três níveis (60, 70 e 80 °C). A partir da média geométrica da resposta dos três haloanisóis, construiu-se a superfície de resposta ilustrada pela Figura 39.

A partir da equação que rege a superfície:

$$R = - 3832633,8 + 114204,7x - 820,2x^2 + 4464,1y - 46,4y^2 + 18,1xy$$

foi obtido o ponto crítico da função como sendo 70,3 °C para a temperatura de extração e 61,8 mg de amostra. Os valores obtidos pela superfície de resposta estão concordantes com os dados obtidos pelo gráfico de Pareto.

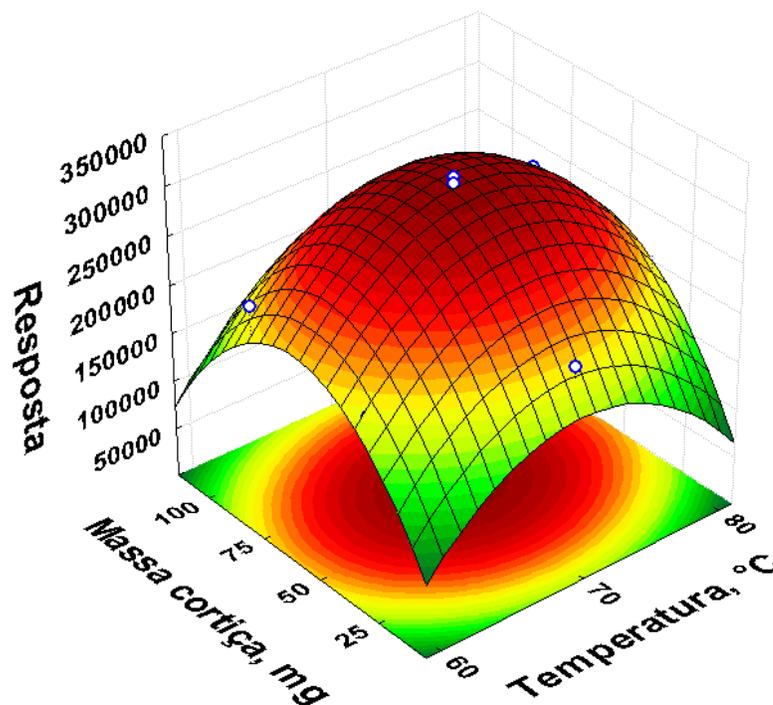


Figura 39. Superfície de resposta obtida por um planejamento Doehlert para duas variáveis na análise de haloanisóis em cortiça.

☞ Performance da fibra NiTi-ZrO₂-PEG

O desempenho da fibra NiTi-ZrO₂-PEG na extração de haloanisóis em amostras de cortiça foi avaliada pela obtenção dos parâmetros analíticos de mérito. A faixa linear de trabalho, coeficientes de correlação da curva de calibração e os limites de detecção e quantificação obtidos são apresentados na Tabela 16. Ótimos coeficientes de correlação foram obtidos, sendo maiores que 0,9954. Os limites de detecção foram menores que 6,2 ng g⁻¹, sendo comparáveis a outros trabalhos presentes na literatura. Lorenzo, *et al.* [123] empregando extração sortiva no headspace (HSSE) e detecção por GC-MS, obtiveram LD de 2,67, 30,65 e 11,01 ng g⁻¹ para TCA, TBA e PCA, respectivamente. Carasek *et al.* [118] empregando HS-SPME e detecção por GC-TOF-MS, obtiveram LD de 1,2 e 1,6 ng g⁻¹ para TCA e PCA, respectivamente.

Tabela 16 . Faixa linear, coeficientes de correlação, limites de detecção e quantificação obtidos pelo método para a determinação de haloanisóis em amostras de cortiça com a fibra NiTi-ZrO₂-PEG.

Compostos	Faixa linear ^a	R ^b	LD ^c , ng g ⁻¹	LQ ^d , ng g ⁻¹
TCA	20 – 400	0,9989	5,1	17,0
TBA	20 – 300	0,9993	6,2	20,6
PCA	10 – 300	0,9954	2,5	8,3

^a faixa linear de trabalho; ^b Coeficiente de correlação da curva de calibração; ^c limite de detecção; ^d limite de quantificação.

A repetitividade da metodologia foi avaliada através de sete extrações consecutivas de uma solução contendo amostras de cortiça enriquecidas com 25 ng g⁻¹ de TCA e TBA e 15 ng g⁻¹ de PCA, onde o desvio padrão relativo (RSD) envolveu a faixa de 5,8 a 12,0%. A reprodutibilidade do procedimento de recobrimento pelo processo sol-gel também foi avaliado, o desvio padrão relativo confrontando cinco diferentes fibras foi menor que 13%, utilizando o mesmo valor de enriquecimento usado para a repetitividade.

✂ *Amostras de cortiça*

A metodologia otimizada com a nova fibra de SPME, foi aplicada na extração de três amostras de cortiça. Nenhuma das amostras apresentou concentração de haloanisóis detectável. Assim, a exatidão da metodologia foi investigada pela técnica de enriquecimento e recuperação. As três amostras de cortiça foram enriquecidas em dois diferentes níveis de concentração 84,8 e 254,4 ng g⁻¹ para TCA, 68,6 e 205,6 ng g⁻¹ para TBA e 63,4 e 190,1 ng g⁻¹ para PCA. Os valores de recuperação estão apresentados na Tabela 17. A faixa de recuperação ficou entre 83,2 a 119,0%, sendo valores satisfatórios tratando-se de uma matriz sólida e complexa.

Tabela 17 . Recuperação para haloanisóis em amostras de cortiça utilizando a fibra NiTi-ZrO₂-PEG e dois níveis de concentração para cada amostra.

Adição, ng g ⁻¹	Recuperação, %		
	Amostra I	Amostra II	Amostra III
TCA			
84,8	86,3 ± 3,6	93,0 ± 5,0	83,7 ± 2,9
254,4	90,5 ± 3,4	109,6 ± 2,9	92,2 ± 5,3
TBA			
68,6	98,4 ± 3,8	101,6 ± 1,8	100,9 ± 5,5
205,6	119,0 ± 4,2	113,0 ± 2,5	117,8 ± 3,8
PCA			
63,4	103,6 ± 2,6	106,2 ± 4,3	100,4 ± 1,5
190,1	102,5 ± 3,1	106,9 ± 5,5	102,5 ± 3,0

☞ Comparação da fibra NiTi-ZrO₂-PEG com fibras comerciais

A eficiência de extração da fibra NiTi-ZrO₂-PEG, 17 µm, na extração de halofenóis, ftalatos e haloanisóis, foi confrontada com duas fibras de SPME comerciais, as quais foram escolhidas com base na semelhança de polaridade. Avaliaram-se as fibras de poliacrilato 85 µm e carbowax/divinilbenzeno (CW/DVB) 65 µm. Para halofenóis a extração foi realizada usando uma solução aquosa contendo 250 e 200 ng L⁻¹ de TCP e TBP, respectivamente, com 7 g de NaCl, extração a 48°C por 40 minutos. Para ftalatos a concentração avaliada foi 30 µg L⁻¹ de cada ftalato, extração a 50°C por 30 minutos. Para haloanisóis avaliou-se uma concentração de 84,8; 68,6 e 63,4 ng L⁻¹ para TCA, TBA e PCA, respectivamente, com 3 g de NaCl, extração a 70°C por 60 minutos. Esta comparação é ilustrada na Figura 40.

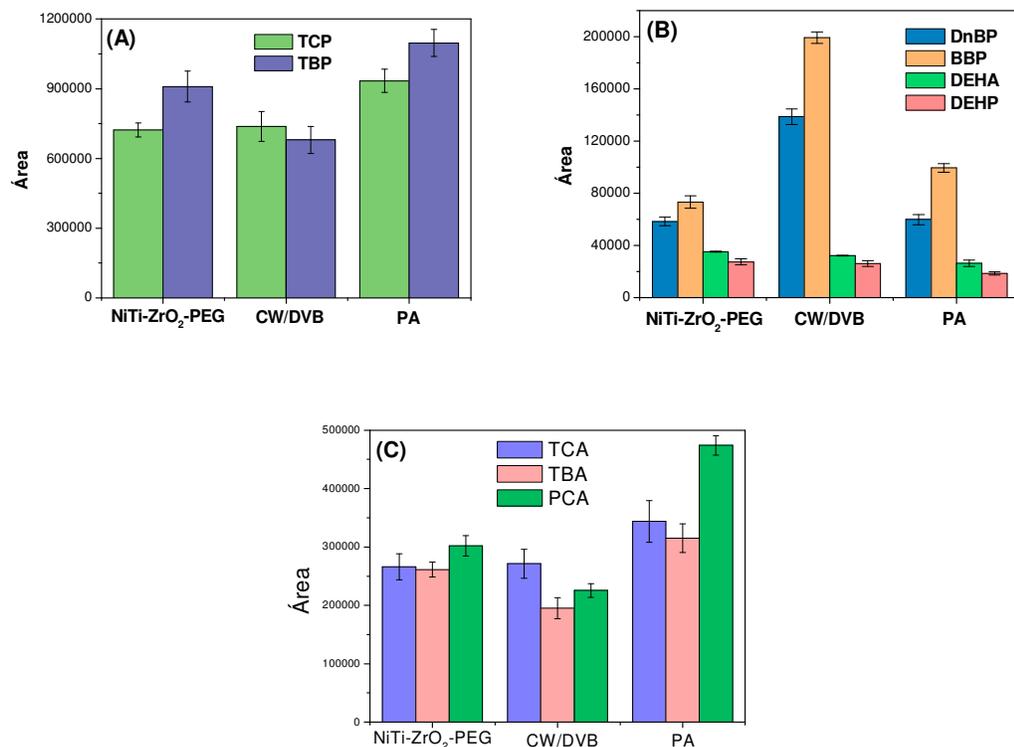


Figura 40. Comparação da fibra NiTi-ZrO₂-PEG 17 µm com as fibras comerciais PA 85 µm e CW/DVB 65 µm. (A) Halofenóis, (B) ftalatos e (C) haloanisóis.

Como pode ser verificado através da Figura 40, a fibra NiTi-ZrO₂-PEG mesmo contendo uma menor espessura de recobrimento, ainda é comparável as outras fibras avaliadas. Com exceção da fibra CW/DVB na extração de DnBP e BBP, a qual obteve uma maior eficiência mais provavelmente devido à presença de partículas de DVB, o qual é um forte adsorvente.

Como a fibra NiTi-ZrO₂-PEG tem uma espessura de recobrimento menor que as fibras comerciais estudadas, avaliou-se também a eficiência de extração por unidade de volume, ou seja a área cromatografica é dividida pelo volume de recobrimento da fibra¹⁴, os resultados são ilustrados na Figura 41.

¹⁴ Ver Tabela 9, Capítulo 5

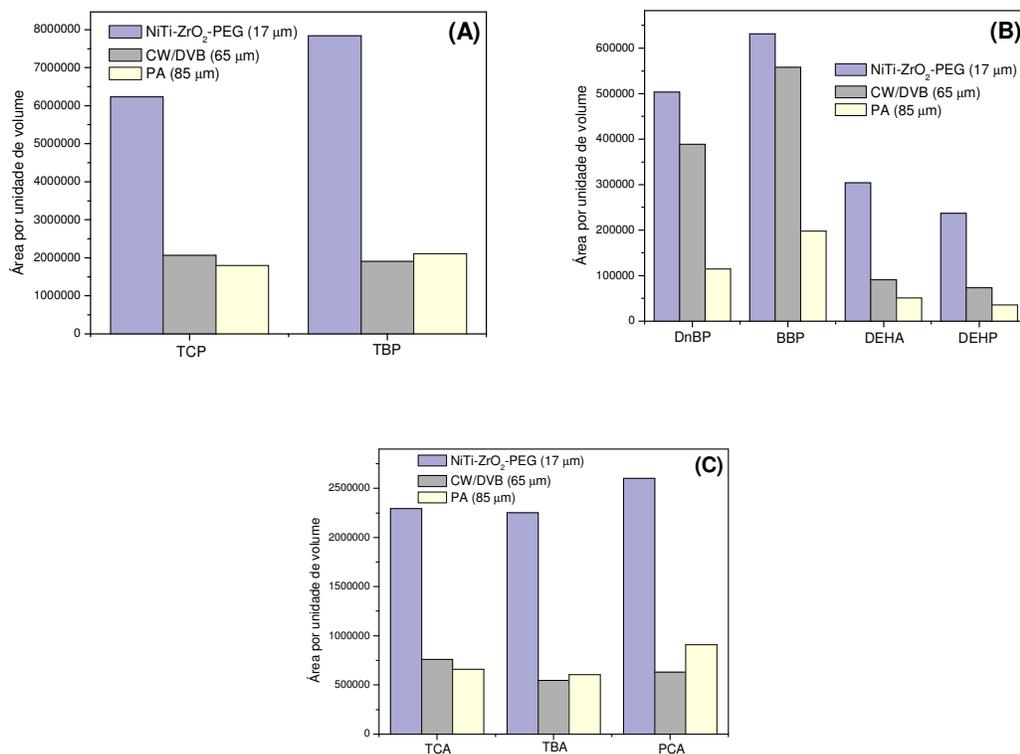


Figura 41. Eficiência de extração por unidade de volume da fibra NiTi-ZrO₂-PEG em confronto com duas fibras comerciais: CW/DVB e PA na extração de (A) halofenóis, (B) ftalatos e (C) haloanisóis.

Como pode ser observado (Figura 41), a fibra NiTi-ZrO₂-PEG tem uma maior capacidade adsorptiva por unidade de volume comparado com as outras fibras avaliadas.

9.5. Conclusões parciais

O método proposto usando a fibra NiTi-ZrO₂-PEG mostrou boa sensibilidade e seletividade para haloanisóis, com limites de detecção em níveis de ng g⁻¹. A eficiência de extração da fibra NiTi-ZrO₂-PEG foi comparada com duas fibras comerciais: CW/DVB 65 μm e PA 85 μm. A fibra foi usada por mais de 400 extrações e ciclos de dessorção sem apresentar perdas de eficiência.

Conclusões

Nesta tese de doutorado, o desenvolvimento de novas fases extratoras para técnicas modernas de preparação de amostras e sua aplicação em amostras ambientais e matrizes vegetais resultou em muitos aspectos importantes.

- ✎ A liga de NiTi inicialmente proposta apenas como suporte para reações sol-gel mostrou-se eficaz também como fase extratora para SPME.

A fibra NiTi-ZrO₂ foi aplicada com sucesso na extração de alcoóis, BTEX e THM de amostras gasosas, na extração de halofenóis em amostras de água de rio e apresentou excelente seletividade para a extração de haloanisóis em amostras de vinho tinto com limites de detecção comparáveis a outros métodos reportados na literatura. A eficiência de extração foi comparável a fibra comercial de PDMS com 7 µm de espessura, mesmo contendo uma espessura de recobrimento muito menor (1,35 µm). Levando em conta a eficiência de extração por unidade de volume, a capacidade de extração da fibra NiTi-ZrO₂ é melhor que as outras fibras comerciais avaliadas. A estabilidade térmica da fibra NiTi-ZrO₂ (suporte e recobrimento) é muito alta. Assim, altas temperaturas de dessorção podem ser aplicadas para esta fibra em comparação a outras fibras comerciais, eliminando efeitos de memória. Os métodos desenvolvidos com esta fibra zirconizada apresentaram excelente precisão e sua capacidade de extração se mostrou estável e constante por mais de 700 extrações. A avaliação da eficiência de extração da fibra NiTi-ZrO₂ realizada para cinco diferentes classes de compostos (alcoóis, BTEX, THM,

halofenóis e haloanisóis) foi importante para ampliar a sua aplicabilidade, promovendo esta nova fibra como uma promissora alternativa para a técnica de micro extração em fase sólida.

- ✎ A liga NiTi recoberta eletroliticamente com óxido de zircônio é um excelente substrato para reações sol-gel.

A fibra NiTi-ZrO₂-PDMS apresentou excelente estabilidade térmica, até 320 °C, possibilitando a aplicação de altas temperaturas de dessorção sem perdas na eficiência de extração. A eficiência da fibra NiTi-ZrO₂-PDMS com 25 µm de espessura mostrou-se superior a fibra de PDMS 30 µm comercialmente disponível. A fibra também apresentou excelente sensibilidade para as classes avaliadas, BTEX e pesticidas organoclorados, demonstrando assim a sua aplicabilidade tanto para amostragem direta (contato direto da fibra com a solução amostra) quanto para amostragem a partir do headspace da amostra (parte gasosa). Manteve sua eficiência de extração por mais de 450 ciclos de extração.

- ✎ O substrato de NiTi zirconizado também mostrou-se eficiente para reações sol-gel com recobrimento de polietilenoglicol.

A superfície da fibra apresentou melhor uniformidade e homogeneidade comparada a fibra preparada sem o filme de óxido de zircônio. Uma excelente estabilidade térmica foi verificada até 320 °C. A eficiência de extração da fibra NiTi-ZrO₂-PEG foi comparável a fibras comerciais avaliadas e, levando em consideração a eficiência de extração por unidade de volume de recobrimento a eficiência para a fibra de PEG proposta neste trabalho é superior as fibras comerciais avaliadas, CW/DVB e PA. A avaliação da eficiência da nova fibra de PEG para diferentes classes de compostos, halofenóis, ftalatos em amostras aquosas e haloanisóis em amostras de cortiça, comprovam a aplicabilidade da nova fibra tanto para amostragem direta quanto para amostragem a partir do headspace da amostra e também na aplicação de

amostras sólidas complexas como a cortiça. A fibra NiTi-ZrO₂-PEG manteve a sua eficiência de extração por mais de 400 ciclos de extração.

- ✎ A alta estabilidade térmica obtida para as duas fibras, NiTi-ZrO₂-PDMS e NiTi-ZrO₂-PEG, sugere uma possível e eficiente ligação química entre o suporte zirconizado e o polímero de recobrimento. A comparação de micrografias das fibras preparadas com e sem o filme de óxido de zircônio confirma a importância da camada de zircônio para um eficiente e homogêneo recobrimento polimérico. Assim, os excelentes resultados obtidos para os recobrimentos obtidos por processos sol-gel, somados com a superelasticidade e robustez, propriedades do substrato de NiTi, propõe estas duas novas fibras robustas como excelentes e confiáveis alternativas em substituição ao uso de fibras comerciais.

Referências bibliográficas

1. Shojania S., Oleschuk R.D., McComb M.E., Gesser H.D., Chow A. *The active and passive sampling of benzene, toluene, ethyl benzene and xylenes compounds using the inside needle capillary adsorption trap device*. *Talanta*, 1999. **50**: p. 193-205.
2. Chong S.L., Wang D.X., Hayes J.D., Wilhite B.W., Malik A. *Sol-Gel Coating Technology for the Preparation of Solid-Phase Microextraction Fibers of Enhanced Thermal Stability*. *Analytical Chemistry*, 1997. **69**(19): p. 3889-3898.
3. Crespo M.O.P., Yusty M.A.L. *Comparison of supercritical fluid extraction and Soxhlet extraction for the determination of aliphatic hydrocarbons in seaweed samples*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2006. **64**(3): p. 400-405.
4. Rogers E., Petreas M., Park J.-S., Zhao G., Charles M.J. *Evaluation of four capillary columns for the analysis of organochlorine pesticides, polychlorinated biphenyls, and polybrominated diphenyl ethers in human serum for epidemiologic studies*. *Journal of Chromatography B*, 2004. **813**(1-2): p. 269-285.
5. Vichi S., Santini C., Natali N., Riponi C., López-Tamames E., Buxaderas S. *Volatile and semi-volatile components of oak wood chips analysed by Accelerated Solvent Extraction (ASE) coupled to gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS)*. *Food Chemistry*, 2007. **102**(4): p. 1260-1269.
6. Regueiro J., Llompart M., García-Jares C., Cela R. *Determination of polybrominated diphenyl ethers in domestic dust by microwave-assisted solvent extraction and gas chromatography-tandem mass spectrometry*. *Journal of Chromatography A*, 2006. **1137**(1): p. 1-7.

7. Mendas G., Tkalcevic B., Drevenkar V. *Determination of chloro- and methylthiotriazine compounds in human urine: extraction with diethyl ether and C18 solid-phase extraction for gas chromatographic analysis with nitrogen-selective and electron capture detection*. *Analytica Chimica Acta*, 2000. **424**(1): p. 7-18.
8. Budziak D., Junior L.R., Beltrame E., Carasek E. *Monitoring the formation of trihalomethanes in the effluents from a shrimp hatchery*. *Environmental Monitoring and Assessment*, 2007. **127**(1-3): p. 435-444.
9. Pawliszyn, J., Zhang Z. *Headspace Solid-Phase Microextraction*. *Analytical Chemistry*, 1993. **65**: p. 1843-1852.
10. Leinonen A., Vuorensola K., Lepola L.-M., Kuuranne T., Kotiaho T., Ketola R.A., Kostianen R. *Liquid-phase microextraction for sample preparation in analysis of unconjugated anabolic steroids in urine*. *Analytica Chimica Acta*, 2006. **559**(2): p. 166-172.
11. Lanças, F.M., *Extração em Fase Sólida (SPE)*, ed. RiMa. 2004, São Carlos - SP.
12. Tarning J., Singtoroj T., Annerberg A., Ashton M., Bergqvist Y., White N.J., Day N.P.J., Lindegardh N. *Development and validation of an automated solid phase extraction and liquid chromatographic method for the determination of piperazine in urine*. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2006. **41**(1): p. 213-218.
13. Abdel-Rehim, M., *New trends in sample preparation: on-line microextraction in packed syringe for liquid and gas chromatography applications: I. Determination of local anaesthetics in human plasma samples using gas chromatography-mass spectrometry*. *Journal of Chromatography B*, 2004. **801**(2): p. 317-321.
14. Abdel-Rehim M., Skansen P., Vita M., Hassan Z., Blomberg L., Hassan M. *Microextraction in packed syringe/liquid chromatography/electrospray tandem mass spectrometry for quantification of olomoucine in human plasma samples*. *Analytica Chimica Acta*, 2005. **539**(1-2): p. 35-39.
15. Altun Z., Abdel-Rehim M., Blomberg L.G. *New trends in sample preparation: on-line microextraction in packed syringe (MEPS) for LC and GC applications: Part III: Determination and validation of local*

- anaesthetics in human plasma samples using a cation-exchange sorbent, and MEPS-LC-MS-MS.* Journal of Chromatography B, 2004. **813**(1-2): p. 129-135.
16. El-Beqqali, A., Kussak A., Abdel-Rehim M. *Fast and sensitive environmental analysis utilizing microextraction in packed syringe online with gas chromatography-mass spectrometry: Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in water.* Journal of Chromatography A, 2006. **1114**(2): p. 234-238.
 17. Zhao E.C., Shan W.L., Jiang S.R., Liu Y., Zhou Z.Q. *Determination of the chloroacetanilide herbicides in waters using single-drop microextraction and gas chromatography.* Microchemical Journal, 2006. **83**(2): p. 105-110.
 18. Esteve-Turrillas F.A., Aman C.S., Pastor A., de la Guardia M. *Microwave-assisted extraction of pyrethroid insecticides from soil.* Analytica Chimica Acta, 2004. **522**(1): p. 73-78.
 19. Arthur C.L., Pawliszyn J. *Solid phase microextraction with thermal desorption using fused silica optical fibers.* Analytical Chemistry, 1990. **62**(19): p. 2145-2148.
 20. Kawaguchi M., Ito R., Saito K., Nakazawa H. *Novel stir bar sorptive extraction methods for environmental and biomedical analysis.* Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2006. **40**(3): p. 500-508.
 21. Koziel J.A., Odziemkowski M., Pawliszyn J. *Sampling and Analysis of Airborne Particulate Matter and Aerosols Using In-Needle Trap and SPME Fiber Devices.* Analytical Chemistry, 2001. **73**(1): p. 47-54.
 22. Wang A., Fang F., Pawliszyn J. *Sampling and determination of volatile organic compounds with needle trap devices.* Journal of Chromatography A, 2005. **1072**(1): p. 127-135.
 23. Page B.D., Lacroix G. *Analysis of volatile contaminants in vegetable oils by headspace solid-phase microextraction with Carboxen-based fibres.* Journal of Chromatography A, 2000. **873**(1): p. 79-94.
 24. Du X.-Z., Wang Y.-R., Tao X.-J., Deng H.-L. *An approach to application of mesoporous hybrid as a fiber coating of solid-phase microextraction.* Analytica Chimica Acta, 2005. **543**(1-2): p. 9-16.

25. Pawliszyn J., Belardi R. *The application of chemically modified fused silica fibres in extraction of organics from water matrix samples, and their rapid transfer to capillary column*. Water Pollution Research Journal of Canada, 1989. **24**(1): p. 179-191.
26. Helaleh M.I.H., Fujii S., Korenaga T. *Column silylation method for determining endocrine disruptors from environmental water samples by solid phase micro-extraction*. Talanta, 2001. **54**(6): p. 1039-1047.
27. Ezquerro Ó., Ortiz G., Pons B., Tena M.T.. *Determination of benzene, toluene, ethylbenzene and xylenes in soils by multiple headspace solid-phase microextraction*. Journal of Chromatography A, 2004. **1035**(1): p. 17-22.
28. Gorlo D., Wolska L., Zygmunt B., Namiesnik J. *Calibration procedure for solid phase microextraction--gas chromatographic analysis of organic vapours in air*. Talanta, 1997. **44**(9): p. 1543-1550.
29. Basheer C., Lee H.K. *Hollow fiber membrane-protected solid-phase microextraction of triazine herbicides in bovine milk and sewage sludge samples*. Journal of Chromatography A, 2004. **1047**(2): p. 189-194.
30. De Martinis B.S., Martins Ruzzene M.A., Martin C.C.S. *Determination of ethanol in human blood and urine by automated headspace solid-phase microextraction and capillary gas chromatography*. Analytica Chimica Acta, 2004. **522**(2): p. 163-168.
31. Deng C., Zhang J., Yu X., Zhang W., Zhang X. *Determination of acetone in human breath by gas chromatography-mass spectrometry and solid-phase microextraction with on-fiber derivatization*. Journal of Chromatography B, 2004. **810**(2): p. 269-275.
32. Bermejo A.M., López P., Álvarez I., Tabernero M.J., Fernández P. *Solid-phase microextraction for the determination of cocaine and cocaethylene in human hair by gas chromatography-mass spectrometry*. Forensic Science International, 2006. **156**(1): p. 2-8.
33. Plutowska B., Wardencki W. *Aromagrams - Aromatic profiles in the appreciation of food quality*. Food Chemistry, 2007. **101**(2): p. 845-872.

34. Ibáñez E., López-Sebastián S., Ramos E., Tabera J., Reglero G. *Analysis of volatile fruit components by headspace solid-phase microextraction*. Food Chemistry, 1998. **63**(2): p. 281-286.
35. Azodanlou R., Darbellay C., Luisier J.L., Villettaz J.C., Amado R. *Development of a model for quality assessment of tomatoes and apricots*. Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie, 2003. **36**(2): p. 223-233.
36. Augusto F., Valente A.L.P. *Microextração por fase sólida*. Química Nova, 2000. **23**(4): p. 523-530.
37. Alpendurada M.F. *Solid-phase microextraction: a promising technique for sample preparation in environmental analysis*. Journal of Chromatography A, 2000. **889**(1-2): p. 3-14.
38. Yu J., Dong L., Wu C., Wu L., Xing J. *Hydroxyfullerene as a novel coating for solid-phase microextraction fiber with sol-gel technology*. Journal of Chromatography A, 2002. **978**(1-2): p. 37-48.
39. Liu Y., Lee M.L., Hageman K.J., Yang Y., Hawthorne S.B. *Solid-Phase Microextraction of PAHs from Aqueous Samples Using Fibers Coated with HPLC Chemically Bonded Silica Stationary Phases*. Analytical Chemistry, 1997. **69**(24): p. 5001-5005.
40. Kuo C.-P., Shiea J. *Application of Direct Electrospray Probe To Analyze Biological Compounds and To Couple to Solid-Phase Microextraction To Detect Trace Surfactants in Aqueous Solution*. Analytical Chemistry, 1999. **71**(19): p. 4413-4417.
41. Djozan D., Assadi Y. *Monitoring of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Water Using Headspace Solid-Phase Microextraction and Capillary Gas Chromatography*. Microchemical Journal, 1999. **63**(2): p. 276-284.
42. Djozan D., Assadi Y., Haddadi S.H. *Anodized Aluminum Wire as a Solid-Phase Microextraction Fiber*. Analytical Chemistry, 2001. **73**(16): p. 4054-4058.
43. Wu J., Pawliszyn J. *Preparation and applications of polypyrrole films in solid-phase microextraction*. Journal of Chromatography A, 2001. **909**(1): p. 37-52.

44. Wu J., Pawliszyn J. *Polypyrrole-Coated Capillary Coupled to HPLC for In-Tube Solid-Phase Microextraction and Analysis of Aromatic Compounds in Aqueous Samples*. Analytical Chemistry, 2001. **73**(1): p. 55-63.
45. Minjia H., Chao T., Qunfang Z., Guibin J. *Preparation of polyaniline coating on a stainless-steel wire using electroplating and its application to the determination of six aromatic amines using headspace solid-phase microextraction*. Journal of Chromatography A, 2004. **1048**(2): p. 257-262.
46. Djozan D.B., Bahar S. *Solid-Phase Microextraction of Aliphatic Alcohols Based on Polyaniline Coated Fibers*. Chromatographia, 2004. **59**(1-2): p. 95-99.
47. Bagheri H., Mir A., Babanezhad E. *An electropolymerized aniline-based fiber coating for solid phase microextraction of phenols from water*. Analytica Chimica Acta, 2005. **532**(1): p. 89-95.
48. Koster E.H.M., Crescenzi C., den Hoedt W., Ensing K., de Jong G.J. *Fibers Coated with Molecularly Imprinted Polymers for Solid-Phase Microextraction*. Analytical Chemistry, 2001. **73**(13): p. 3140-3145.
49. Djozan D., Ebrahimi B. *Preparation of new solid phase micro extraction fiber on the basis of atrazine-molecular imprinted polymer: Application for GC and GC/MS screening of triazine herbicides in water, rice and onion*. Analytica Chimica Acta, 2008. **616**: p. 152-159.
50. Farajzadeh, M.A., Rahmani N.A. *Electrolytically produced copper(I) chloride on the copper wire as an excellent sorbent for some amines*. Talanta, 2005. **65**(3): p. 700-704.
51. Yun L. *High extraction efficiency solid-phase microextraction fibers coated with open crown ether stationary phase using sol-gel technique*. Analytica Chimica Acta, 2003. **486**(1): p. 63-72.
52. Zeng Z., Qiu W., Huang Z. *Solid-Phase Microextraction Using Fused-Silica Fibers Coated with Sol-Gel-Derived Hydroxy-Crown Ether*. Analytical Chemistry, 2001. **73**(11): p. 2429-2436.
53. Kubota L.T., Alfaya A.A.S. *A Utilização de materiais obtidos pelo processo de sol-gel na construção de biossensores*. Química Nova, 2002. **25**(5): p. 835-841.

54. Wang Z., Xiao C., Wu C., Han H. *High-performance polyethylene glycol-coated solid-phase microextraction fibers using sol-gel technology*. Journal of Chromatography A, 2000. **893**(1): p. 157-168.
55. Kumar A., Gaurav, Malik A.K., Tewary D.K., Singh B. *A review on development of solid phase microextraction fibers by sol-gel methods and their applications*. Analytica Chimica Acta, 2008. **610**: p. 1-14
56. de Oliveira A.F., da Silveira C.B., de Campos S.D., de Campos E.A., Carasek E. *The Use of a Thin Glass-Ceramic Rod as a Surface for Sol-Gel Coating in the Preparation of SPME Fibers*. Chromatographia, 2005. **61**(5): p. 277-283.
57. Zhou F., Li X., Zeng Z. *Determination of phenolic compounds in wastewater samples using a novel fiber by solid-phase microextraction coupled to gas chromatography*. Analytica Chimica Acta, 2005. **538**(1-2): p. 63-70.
58. Yu J., Wu C., Xing J. *Development of new solid-phase microextraction fibers by sol-gel technology for the determination of organophosphorus pesticide multiresidues in food*. Journal of Chromatography A, 2004. **1036**(2): p. 101-111.
59. Lopes A.L., Augusto F. *Preparation and characterization of polydimethylsiloxane/poly(vinylalcohol) coated solid phase microextraction fibers using sol-gel technology*. Journal of Chromatography A, 2004. **1056**(1-2): p. 13-19.
60. Cai L., Xing J., Dong L., Wu C. *Application of polyphenylmethylsiloxane coated fiber for solid-phase microextraction combined with microwave-assisted extraction for the determination of organochlorine pesticides in Chinese teas*. Journal of Chromatography A, 2003. **1015**(1-2): p. 11-21.
61. Liu M., Zeng Z., Xiong B. *Preparation of novel solid-phase microextraction fibers by sol-gel technology for headspace solid-phase microextraction-gas chromatographic analysis of aroma compounds in beer*. Journal of Chromatography A, 2005. **1065**(2): p. 287-299.
62. Hu Y.-I., Fu Y.-I., Li G.-K. *Preparation of anilinemethyl triethoxy silane/polydimethylsiloxane sol-gel coatings for solid-phase microextraction of aromatic compounds*. Analytica Chimica Acta, 2006. **567**(2): p. 211-217.

63. Liu M., Zeng Z., Tian Y. *Elimination of matrix effects for headspace solid-phase microextraction of important volatile compounds in red wine using a novel coating*. *Analytica Chimica Acta*, 2005. **540**(2): p. 341-353.
64. Bagheri H., Babanezhad E., Khalilian F. *A novel sol-gel-based amino-functionalized fiber for headspace solid-phase microextraction of phenol and chlorophenols from environmental samples*. *Analytica Chimica Acta*, 2008. **616**: p. 49-55.
65. Zeng J., Chen J., Lin Z., Chen W., Chen X., Wang X. *Development of polymethylphenylsiloxane-coated fiber for solid-phase microextraction and its analytical application of qualitative and semi-quantitative of organochlorine and pyrethroid pesticides in vegetables*. *Analytica Chimica Acta*, 2008. **619**: p. 59-66.
66. Zhou J., Yang F., Cha D., Zeng Z., Xu Y. *Headspace solid-phase microextraction with novel sol-gel permethylated- β -cyclodextrin/hydroxyl-termination silicone oil fiber for determination of polybrominated diphenyl ethers by gas chromatography-mass spectrometry in soil*. *Talanta*, 2007. **73**: p. 870-877.
67. Farhadi K., Mamaghanian M., Maleki R. *A sol-gel based solid phase microextraction fiber for analysis of aromatic hydrocarbons*. *Journal of Hazardous Materials*, 2008. **152**: p. 677-682.
68. Liu Y., Shen Y., Lee M.L. *Porous Layer Solid Phase Microextraction Using Silica Bonded Phases*. *Analytical Chemistry*, 1997. **69**(2): p. 190-195.
69. Mohammadi A., Yamini Y., Alizadeh N. *Dodecylsulfate-doped polypyrrole film prepared by electrochemical fiber coating technique for headspace solid-phase microextraction of polycyclic aromatic hydrocarbons*. *Journal of Chromatography A*, 2005. **1063**(1-2): p. 1-8.
70. Wu J., Mullett W.M., Pawliszyn J. *Electrochemically Controlled Solid-Phase Microextraction Based on Conductive Polypyrrole Films*. *Analytical Chemistry*, 2002. **74**(18): p. 4855-4859.
71. Alizadeh N., Zarabadipour H., Mohammadi A. *Headspace solid-phase microextraction using an electrochemically deposited dodecylsulfate-doped polypyrrole film to determine of phenolic compounds in water*. *Analytica Chimica Acta*, 2007. **605**: p. 159-165.

72. Djozan D., Assadi Y. *Monitoring of Phenol and 4-Chlorophenol in Petrochemical Sewage Using Solid-Phase Microextraction and Capillary Gas Chromatography*. *Chromatographia*, 2003. **58**: p. 637-642.
73. Sun T., Jia J., Fang N., Wang Y. *Application of novel activated carbon fiber solid-phase, microextraction to the analysis of chlorinated hydrocarbons in water by gas chromatography-mass spectrometry*. *Analytica Chimica Acta*, 2005. **530**(1): p. 33-40.
74. Hou J.-g., Ma Q., Du X.-z., Deng H.-l., Gao J.-z. *Inorganic/organic mesoporous silica as a novel fiber coating of solid-phase microextraction*. *Talanta*, 2004. **62**(2): p. 241-246.
75. Li X., Li C., Chen J., Li C., Sun C. *Polythiophene as a novel fiber coating for solid-phase microextraction*. *Journal of Chromatography A*, 2008. **1198-1100**: p. 7-13.
76. Cao D.-d., Lu J.-x., Liu J.-f., Jiang G.-b. *In situ fabrication of nanostructured titania coating on the surface of titanium wire: A new approach for preparation of solid-phase microextraction fiber*. *Analytica Chimica Acta*, 2008. **611**: p. 56-61.
77. Setkova L., Risticvic S., Pawliszyn J. *Rapid headspace solid-phase microextraction-gas chromatographic-time-of-flight mass spectrometric method for qualitative profiling of ice wine volatile fraction – I: Method development and optimization*. *Journal of Chromatography A*, 2007. **1147**(2): p. 213-223.
78. Setkova L., Risticvic S., Pawliszyn J. *Rapid headspace solid-phase microextraction-gas chromatographic-time-of-flight mass spectrometric method for qualitative profiling of ice wine volatile fraction – II: Classification of Canadian and Czech ice wines using statistical evaluation of the data*. *Journal of Chromatography A*, 2007. **1147**(2): p. 224-240.
79. Setkova L., Risticvic S., Linton C.M., Ouyang G., Bragg L.M., Pawliszyn J. *Solid-phase microextraction-gas chromatography-time-of-flight mass spectrometry utilized for the evaluation of the new-generation super elastic fiber assemblies*. *Analytica Chimica Acta*, 2007. **581**(2): p. 221-231.

80. Tan L., Crone W.C. *Surface characterization of NiTi modified by plasma source ion implantation*. Acta Materialia, 2002. **50**: p. 4449–4460.
81. Giacomelli F.C. *Corrosão em fios de NiTi e validação do uso de fios de platina como pseudo-eletrodo de referência*. , in Departamento de Química. 2004, Universidade Federal de Santa Catarina, UFSC: Florianópolis, Santa Catarina.
82. Zhitomirsky I., Petric A. *Electrolytic deposition of zirconia and zirconia organoceramic composites*. Materials Letters, 2000. **46**: p. 1-6.
83. Yen S.K., Guo M.J., Zan H.Z. *Characterization of electrolytic ZrO₂ coating on Co-Cr-Mo implant alloys of hip prosthesis*. Biomaterials, 2001. **22**: p. 125-133.
84. Muñoz M.C., Gallego S., Beltrán J.I., Cerda J. *Adhesion at metal-ZrO₂ interfaces*. Surface Science Reports, 2006. **61**: p. 303-344.
85. Giacomelli F.C., Giacomelli C., De Oliveira A.G., Spinelli A. *Effect of electrolytic ZrO₂ coatings on the breakdown potential of NiTi wires used as endovascular implants*. Materials Letters, 2005. **59**(7): p. 754-758.
86. Ferreira S.L.C., dos Santos W.N.L., Quintella C.M., Neto B.B., Bosquesendra J.M. *Doehlert matrix: a chemometric tool for analytical chemistry -review*. Talanta, 2004. **63**(4): p. 1061-1067.
87. Bruns, R.E., Scarminio, I.S., Barros Neto, B.d. *Planejamento e Otimização de Experimentos*. 2^a ed. Manuais, ed. Unicamp. 1995, Campinas - SP.
88. Preu M., Guyot D., Petz M. *Development of a gas chromatography-mass spectrometry method for the analysis of aminoglycoside antibiotics using experimental design for the optimisation of the derivatisation reactions*. Journal of Chromatography A, 1998. **818**(1): p. 95-108.
89. Santelli R.E., Bezerra M.A., de SantAna O.D., Cassella R.J., Ferreira S.L.C. *Multivariate technique for optimization of digestion procedure by focussed microwave system for determination of Mn, Zn and Fe in food samples using FAAS*. Talanta, 2006. **68**: p. 1083-1088.
90. Collins C.H., Braga G.L., Bonato P.S. *Fundamentos de Cromatografia*. 2006, Campinas: Editora da Unicamp.
91. Campillo N., Aguinaga N., Viñas P., López-García I., Hernández-Córdoba M. *Capillary gas chromatography with atomic emission detection for*

- determining chlorophenols in water and soil samples*. *Analytica Chimica Acta*, 2005. **552**(1): p. 182-189.
92. Peng J.-F., Liu J.-F., Hu X.-L., Jiang G.-B. *Direct determination of chlorophenols in environmental water samples by hollow fiber supported ionic liquid membrane extraction coupled with high-performance liquid chromatography*. *Journal of Chromatography A*, 2007. **1139**: p. 165-170.
93. Kao C.M., Chai C.T., Liu J.K., Yeh T.Y., Chen K.F., Chen S.C. *Evaluation of natural and enhanced PCP biodegradation at a former pesticide manufacturing plant*. *Water Research*, 2004. **38**: p. 663-672.
94. Lord H., Pawliszyn J. *Evolution of solid-phase microextraction technology*. *Journal of Chromatography A*, 2000. **885**(1-2): p. 153-193.
95. Li X., Zeng Z., Zhou J. *High thermal-stable sol-gel-coated calix[4]arene fiber for solid-phase microextraction of chlorophenols*. *Analytica Chimica Acta*, 2004. **509**(1): p. 27-37.
96. Stashenko E.E., Martinez J.R. *Derivatization and solid-phase microextraction*. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 2004. **23**(8): p. 553-561.
97. Ferreira S.L.C., dos Santos W.N.L., Bezerra M.A., Lemos V.A., Bosques-Sendra J.M. *Use of factorial design and Doehlert matrix for multivariate optimisation of an on-line preconcentration system for lead determination by flame atomic absorption spectrometry*. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2003. **375**(3): p. 443-449.
98. dos Santos W.N.L., Santos C.M.C., Ferreira S.L.C. *Application of three-variables Doehlert matrix for optimisation of an on-line pre-concentration system for zinc determination in natural water samples by flame atomic absorption spectrometry*. *Microchemical Journal*, 2003. **75**(3): p. 211-221.
99. Riu M., Mestres M., Busto O., Guasch J. *Comparative study of two chromatographic methods for quantifying 2,4,6-trichloranisole in wines*. *Journal of Chromatography A*, 2007. **1138**: p. 18-25.
100. Ezquerro Ó., Garrido-López Á., Tena M.T. *Determination of 2,4,6-trichloroanisole and guaiacol in cork stoppers by pressurised fluid extraction and gas chromatography–mass spectrometry*. *Journal of Chromatography A*, 2006. **1102**: p. 18-24.

101. Insa S., Anticó E., Ferreira V. *Highly selective solid-phase extraction and large volume injection for the robust gas chromatography–mass spectrometric analysis of TCA and TBA in wines*. Journal of Chromatography A, 2005. **1089**: p. 235-242.
102. Gómez-Ariza J.L., García-Barrera T., Lorenzo F., Beltrán R. *Use of multiple headspace solid-phase microextraction and pervaporation for the determination of off-flavours in wine*. Journal of Chromatography A, 2006. **1112**: p. 133-140.
103. Martínez-Uruñuela A., González-Sáiz J.M., Pizarro C. *Optimisation of a headspace solid-phase microextraction method for the direct determination of chloroanisoles related to cork taint in red wine*. Journal of Chromatography A, 2004. **1056**: p. 49-56.
104. Gómez-Ariza J.L., García-Barrera T., Lorenzo F. *Analysis of anisoles in wines using pervaporation coupled to gas chromatography–mass spectrometry*. Journal of Chromatography A, 2004. **1049**: p. 147-153.
105. Gómez-Ariza J.L., García-Barrera T., Lorenzo F., González A.G. *Optimisation of a pressurised liquid extraction method for haloanisoles in cork stoppers*. Analytica Chimica Acta, 2005. **540**: p. 17-24.
106. Montes R., Rodríguez I., Rubí E., Bollaín M.H., Cela R. *Alternative sorptive extraction method for gas chromatography determination of halogenated anisoles in water and wine samples*. Analytica Chimica Acta, 2007. **599**: p. 84-91.
107. Ezquerro Ó., Tena M.T. *Determination of odour-causing volatile organic compounds in cork stoppers by multiple headspace solid-phase microextraction*. Journal of Chromatography A, 2005. **1068**: p. 201-208.
108. Riu M., Mestres M., Busto O., Guasch J. *Determination of 2,4,6-trichloroanisole in wines by headspace solid-phase microextraction and gas chromatography–electron-capture detection*. Journal of Chromatography A, 2002. **977**: p. 1-8.
109. Pawliszyn, J. Applications of Solid Phase Microextraction, ed. R.M. Smith. 1999: Royal Society of Chemistry, 655.
110. Liu M., Zeng Z., Fang H.. *Preparation and application of the sol–gel-derived acrylate/ silicone co-polymer coatings for headspace solid-phase*

- microextraction of 2-chloroethyl ethyl sulfide in soil*. Journal of Chromatography A, 2005. **1076**: p. 16–26.
111. Azenha M., Nogueira P., Fernando-Silva A., *Unbreakable Solid-Phase Microextraction Fibers Obtained by Sol-Gel Deposition on Titanium Wire*. Analytical Chemistry, 2006. **78**: p. 2071- 2074.
112. Hwang B.-H., Lee M.-R. *Solid-phase microextraction for organochlorine pesticide residues analysis in Chinese herbal formulations*. Journal of Chromatography A, 2000. **898**: p. 245–256.
113. Lopez-Espinosa M.-J., Lopez-Navarrete E., Rivas A., Fernandez M.F., Noguerras M., Campoy C., Olea-Serrano F., Lardelli P., Olea N. *Organochlorine pesticide exposure in children living in southern Spain*. Environmental Research, 2008. **106**: p. 1–6.
114. Arias-Estévez M., López-Periago E., Martínez-Carballo E., Simal-Gándara J., Mejuto J.-C., García-Río L. *The mobility and degradation of pesticides in soils and the pollution of groundwater resources*. Agriculture, Ecosystems and Environment, 2008. **123**: p. 247–260.
115. Campillo N., Peñalver R., Hernández-Córdoba M. *Pesticide analysis in herbal infusions by solid-phase microextraction and gas chromatography with atomic emission detection*. Talanta, 2007. **71**: p. 1417–1423.
116. Zuin V.G., Lopes A.L., Yariwake J.H., Augusto F. *Application of a novel sol-gel polydimethylsiloxane-poly(vinyl alcohol) solid-phase microextraction fiber for gas chromatographic determination of pesticide residues in herbal infusions*. Journal of Chromatography A, 2004. **1056**: p. 21–26.
117. Portaria nº 518 do Ministério da Saúde do Brasil, Brasil, Março 25, 2004.
118. Carasek E., Cudjoe E., Pawliszyn J. *Fast and sensitive method to chloroanisoles in cork using an internally cooled Solid-Phase Microextraction fiber*. Journal of Chromatography A, 2007. **1138**: p. 10-17.
119. Vlachos P., Kampioti A., Kornaros M., Lyberatos G. *Matrix effect during the application of a rapid method using HS-SPME followed by GC-ECD for the analysis of 2,4,6-TCA in wine and cork soaks*. Food Chemistry, 2007. **105**: p. 681–690.

120. Insa S., Salvadó V., Anticó E. *Development of solid-phase extraction and solid-phase microextraction methods for the determination of chlorophenols in cork macerate and wine samples*. Journal of Chromatography A, 2004. **1047**: p. 15–20.
121. Pizarro C., Pérez-del-Notario N., González-Sáiz J.M. *Multiple headspace solid-phase microextraction for eliminating matrix effect in the simultaneous determination of haloanisoles and volatile phenols in wines*. Journal of Chromatography A, 2007. **1166**: p. 1–8.
122. Jönsson S., Uusitalo T., van Bavel B., Gustafsson I.-B., Lindström G. *Determination of 2,4,6-trichloroanisole and 2,4,6-tribromoanisole on ng L⁻¹ to pg L⁻¹ levels in wine by solid-phase microextraction and gas chromatography-high-resolution mass spectrometry*. Journal of Chromatography A, 2006. **1111**: p. 71–75.
123. Lorenzo C., Zalacain A., Alonso G.L., Salinas M.R. *Non-destructive method to determine halophenols and haloanisoles in cork stoppers by headspace sorptive extraction*. Journal of Chromatography A, 2006. **1114**: p. 250-254.

APÊNDICE

Extração sortiva com membrana de silicone a partir do headspace (HS-SMSE) na análise da fração volátil de matrizes vegetais

Parte da tese de doutorado desenvolvida no *Dipartimento di Scienza e Tecnologia del Farmaco – Università degli Studi di Torino - Italia*

Aluna: Dilma Budziak
Orientador: Dr. Carlo Bicchi

Turim, novembro de 2007 a outubro de 2008.

Apêndice

Extração sortiva com membrana de silicone a partir do headspace (HS-SMSE) na análise da fração volátil de matrizes vegetais

Revisão bibliográfica

A extração com sorvente usando barras magnéticas, mais conhecidas internacionalmente como *Stir Bar* e também comercializada como *Twister*[®] [1], foi inicialmente apresentada por Baltussen *et al.* [2]. Estas barras extratoras possuem três partes principais. A primeira (parte interna) é uma barrinha magnética de agitação a qual é necessária para transferir o movimento de rotação de uma chapa de agitação para a amostra líquida. A segunda parte é uma fina jaqueta de vidro que envolve a barra magnética. A terceira e mais externa é a camada de sorvente PDMS, na qual os analitos são extraídos. A camada de vidro é essencial para a construção de barras extratoras com alta qualidade como se efetivamente prevenisse a decomposição da camada de PDMS, a qual é catalisada pelo metal da barra magnética [3].

A extração pode acontecer através de dois modos, como ilustrado na Figura 1: (a) colocando a barra extratora diretamente na amostra líquida ou (b) suspendendo a mesma no headspace da matriz, por um fio de aço inoxidável recoberto com uma camada de sílica fundida, por determinado tempo, recebendo a denominação de extração sortiva no headspace (HSSE) [4]. O tempo de extração é controlado, sendo que o mesmo é determinado pelo volume da amostra, velocidade de agitação e dimensões da barra extratora, os quais podem ser otimizados dependendo da aplicação. Quando a extração se

dá em solução aquosa, a barra extratora é removida e muito suavemente limpa para remover gotículas de água.

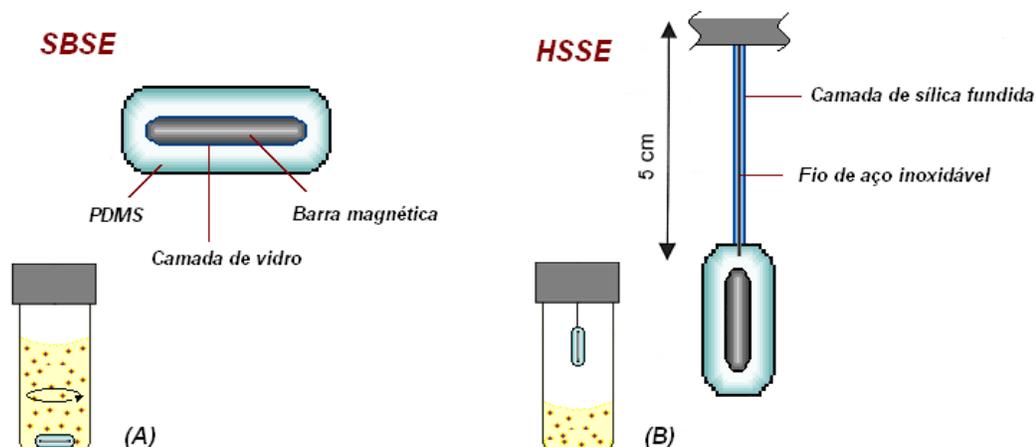


Figura 1. Barra extratora de PDMS. (A) Extração com a barra extratora diretamente na solução amostra e (B) aparato de amostragem no headspace.

Dois modos de dessorção podem ser aplicados: a dessorção térmica (DT) e a dessorção líquida (DL). No primeiro modo, a barra magnética recoberta com PDMS é colocada dentro de um tubo oco de vidro para a dessorção térmica os analitos mediante uma unidade de dessorção térmica ilustrada na Figura 2 (TDS: Thermal Desorption System, Gerstel, Mülheim a/d Ruhr, Germania).

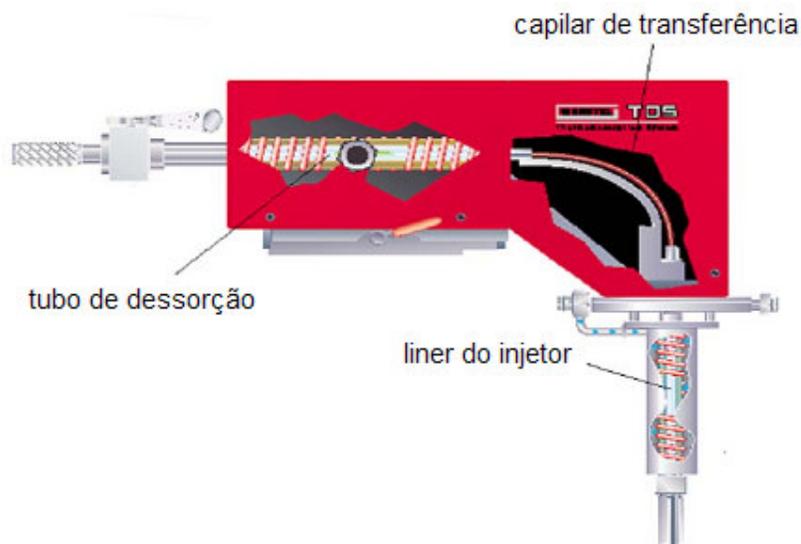


Figura 2. Sistema TDS para dessorção térmica.

A barra extratora ou stir bar, inserido no tubo de dessorção, é submetido rapidamente a elevadas temperaturas permitindo a dessorção dos analitos. Estes são transferidos pelo gás carreador, através do capilar de transferência, ao injetor devidamente refrigerado com CO₂ (CIS: Cryo Injection System). No injetor os analitos são concentrados e sucessivamente, terminada a dessorção, transferidos para a coluna cromatográfica (pelo aquecimento instantâneo do injetor).

Uma evolução do sistema TDS é chamado de TDU (Thermal Desorption Unit, Gerstel, Mülheim a/d Ruhr, Germania) representado na Figura 3.

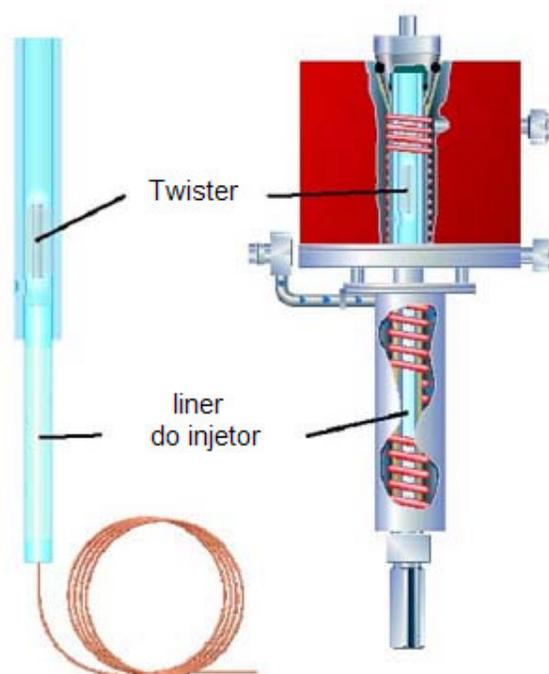


Figura 3. Sistema TDU de dessorção térmica: "liner in liner".

O sistema TDU foi projetado e otimizado para ser utilizado de maneira específica com Twisters. A principal vantagem do sistema TDU é a eliminação do "volume morto". De fato, a diferença do que acontece no TDS, no qual os analitos dessorvidos difundem-se em um volume morto antes de chegar ao injetor, em TDU os analitos passam imediatamente ao injetor (tecnologia "liner in liner"). Desta maneira é eliminada a perda de analitos durante a transferência ao injetor [5].

Em muitos casos, é recomendável rinsar suavemente a barra extratora com água deionizada para remover proteínas adsorvidas ou outros compostos da amostra. Esta etapa previne a formação de materiais não voláteis durante a etapa de dessorção térmica. A temperatura de dessorção é dependente da aplicação e primeiramente determinado pela volatilidade do soluto, sendo aplicada usualmente entre 150 e 300 °C. A dessorção é acompanhada de um fluxo de hélio a 10 – 50 mL min⁻¹ por 5 – 15 minutos.

Como uma alternativa a DT, pode-se usar DL. Aproximadamente 100 – 200 µL de um solvente orgânico, como metanol e acetonitrila, são usados para a dessorção. No caso de DL, o extrato é submetido à HPLC convencional, CE ou GC compatível a injeção de grandes volumes [3].

Os aspectos fundamentais de SBSE para amostragem em fase líquida são similares aos princípios da microextração em fase sólida porque as duas técnicas são baseadas em extração sortiva (ES). SBSE tem oferecido maiores recuperações que SPME, desta forma superando uma de suas limitações, a baixa capacidade de concentração devido ao pequeno volume de recobrimento polimérico. Em SPME o máximo volume de PDMS recoberto sobre a fibra é de 0,65 µL (fibra de 100 µm) enquanto em SBSE a faixa envolve de 25 a 125 µL [1].

SBSE tem sido aplicada com sucesso na análise de PAH, pesticidas, ftalatos e fenóis em água [6 – 9], principais aromas e fenóis em vinho [10], [11], pesticidas em mel [12], pesticidas em frutas e vegetais [13 - 15] hormônios sexuais (esteróis) em água e urina [16], nonilfenol e hidroxinonenal (marcador de stress oxidativo) em urina [17, 18], pesticidas organoclorados em solos [19], entre outros.

➤ *Desenvolvimento de novos recobrimentos para SBSE*

Na SBSE convencional, um tubo especial de PDMS, o qual recobre um tubo de vidro com um núcleo magnético, é usado como fase extratora. Até agora, este ainda não é um método satisfatório para a preparação de revestimentos para SBSE diretamente sobre o recobrimento de vidro, isto, por não proporcionar forte adesão do recobrimento na superfície da barra, de sílica fundida ou vidro [20].

Comparado a tecnologia de recobrimento estático, a tecnologia de sol-gel pode ser muito mais apropriada para a preparação de filmes espessos. A tecnologia sol-gel leva a forte adesão entre o recobrimento e a superfície da barra de sílica fundida (ou vidro) por ligação química. Assim, a fase extratora apresenta baixa sangria, boa repetitividade e longo tempo de vida em extração sortiva (ES). Considerando essas vantagens, Liu *et al.* [20] usaram uma nova barra extratora de PDMS baseada em tecnologia sol-gel.

Entretanto, uma limitação desta técnica de extração é que PDMS (fase apolar) é o único polímero até o presente adotado e disponível comercialmente como recobrimento para as barras magnéticas [4]. PDMS é o sorvente mais popular empregado em extrações sortivas por ser inerte, baixa possibilidade de perdas de analitos por adsorção irreversível ou por reações catalíticas (na superfície). Em adição, a síntese de PDMS é relativamente simples e reproduzível. Seus produtos de degradação são conhecidos e facilmente identificados por espectrometria de massa. Estas vantagens e a falta de outros materiais tão estáveis, inertes e reproduzíveis esclarecem seu uso difundido em extrações sortivas [21]. Porém, o recobrimento de PDMS promove baixa recuperação na extração de compostos polares, além de resultar na adsorção de proteínas quando aplicado a amostras biológicas [22]. Barras extratoras recobertas com materiais com melhor afinidade por compostos polares podem promover a SBSE maior flexibilidade e seletividade mantendo sua capacidade de concentração [4].

Para a análise de fluidos biológicos e metabólicos, foi proposta uma nova barra extratora baseada em material de acesso restrito (RAM). Em particular, as partículas RAM alquil-diol-sílica (ADS) podem fracionar uma amostra entre a matriz protéica e os analitos, com um tamanho de poro controlado que atua como uma barreira física para excluir macromoléculas (massa molar >15000). Simultaneamente com este processo de exclusão por tamanho, os compostos de baixa massa molar são extraídos e enriquecidos, via partição, no interior da fase [22].

A combinação de dois ou mais materiais com capacidade de concentração baseado em diferentes princípios, de maneira a obter um efeito sinérgico positivo, é apresentado por Bicchi *et al.* [4], onde uma nova geração de barras extradoras, explorando absorção e adsorção simultaneamente, é introduzida. Esta nova barra extratora, nomeada como *dual phase stir bar*, consiste em um pequeno tubo de PDMS onde suas extremidades são fechadas com dois magnetos, e cujo volume interno é empacotado com um sorvente (diferentes tipos de carvão ativado foram testados). Este novo aparato, ilustrado pela Figura 4, foi aplicado para diferentes matrizes e no momento, está sendo avaliado comercialmente (EU patent 05010432.2).

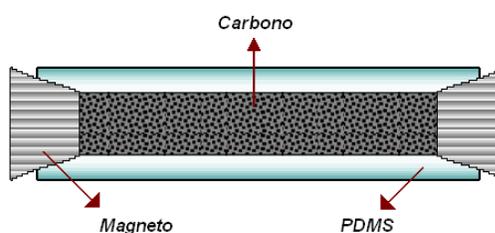


Figura 4. Barra extratora com dupla fase, desenvolvida por Bicchi *et al.*

Além disso, fases poliméricas que possam aumentar a velocidade da amostragem de ultra traços são também necessárias, em particular, quando a composição do headspace é usada como um parâmetro para monitorar a dinâmica e/ou a cinética de processos biológicos. Novos procedimentos ou materiais concentradores são conseqüentemente requeridos para superar os limites desta técnica, e para ampliar a faixa de aplicações.

☞ *Aplicação de solventes para extrações com membranas*

Uma alternativa em SBSE é o emprego de solventes como preenchimento para o tubo de PDMS. Uma forma simples e eficiente para modificar suas propriedades.

Recentemente Popp *et al.* [23 - 27] investigaram e desenvolveram um aparato similar a SBSE, o qual denominaram MASE (membrane-assisted solvent extraction) no qual empregaram uma membrana de polipropileno preenchida com 800 μ L de solvente orgânico na extração por contato direto do tubo com solvente com a solução amostra. Posteriormente MASE, empregando o tubo de polipropileno, foi aplicado para amostragem a partir do headspace da amostra [28].

Jánská *et al.* [29] empregaram um tubo de silicone preenchido com solvente orgânico o qual denominaram SiSTEx (solvent in silicone tube extraction) para a amostragem direta e extração de pesticidas de frutas e vegetais.

Da mesma forma, uma nova técnica de extração sortiva é apresentado por Hoeck *et al.* [30], denominada extração sortiva com membrana de silicone (SMSE – silicone membrane sorptive extraction), na qual um tubo de PDMS é preenchido com solvente orgânico (suas extremidades fechadas com pequenos magnetos) e colocado em contato com solução amostra para extração. Depois da extração o solvente orgânico do tubo de PDMS é analisado por HPLC/MS ou GC/MS com capacidade de injeção de grandes volumes. Embora essa técnica nada mais seja que a troca do preenchimento sólido da barra extratora com dupla fase (dual phase stir bar) por um preenchimento líquido (solvente orgânico), esta técnica é denominada SMSE e não SBSE.

Introdução

A técnica de extração sortiva com membrana de silicone (SMSE) é aplicada pela primeira vez neste trabalho na extração da fração volátil de matrizes vegetais com amostragem a partir do headspace da amostra. Além da injeção do solvente que resta no tubo depois da extração, é também realizada a dessorção térmica do tubo de PDMS através de um sistema TDS ou TDU e análise por GC-FID e GC-MS. As matrizes investigadas foram: sálvia (*Salvia lavandulifolia Vahl.*), tomilho (*Thymus vulgaris L.*), café tostado em pó e uma mistura de ácidos orgânicos (C₂ - C₁₀).

- ✎ **Sálvia:** planta comumente usada na cultura européia e norte americana. Muito usada na culinária como condimento para carnes. É correntemente usada como erva medicinal, no tratamento de indigestão, inflamações da garganta e também como redutor da transpiração, incluindo as variações térmicas durante a menopausa. Sua aplicação por ingestão é recomendada no tratamento de dispepsia e transpiração excessiva e aplicação externa nos casos de inflamações das membranas da boca e nariz. Embora várias fontes de referências modernas discutam vagamente seus efeitos sobre o sistema nervoso central, uma pesquisa em uma literatura mais antiga revela que a sálvia possui algumas atividades consideradas hoje relevantes para o tratamento da doença de Alzheimer, uma reputação particular como sendo boa para a memória. Porém, diversas espécies estão disponíveis comercialmente, e a composição química varia para cada espécie. [31]. A *Salvia lavandulifolia Vahl.* usada neste trabalho é ilustrada na Figura 5.



Figura 5. Sálvia (*Salvia lavandulifolia* Vahl.)

- ✎ **Tomilho:** *Thymus vulgaris* L. e *Thymus serpyllum* L. estão oficializados na Farmacopéia Européia 5 (Ph.Eur. 5). Geralmente empregados como condimentos de alimentos, a planta de tomilho ou seus extratos são também usados oralmente para tratar dispepsia e outros distúrbios gastrointestinais, tosse, bronquite e laringite. Na Europa o tomilho é considerado como broncoplasmático, expectorante, antimicrobial, usado no tratamento de distúrbios respiratórios e sintomas de bronquite [32]. O *Thymus vulgaris* L. investigado neste trabalho é ilustrado na Figura 6.



Figura 6. Tomilho (*Thymus vulgaris* L.)

- ✎ **Café:** Originário das terras altas da Etiópia, e difundido pelo mundo através do Egito e da Europa, o café é uma das bebidas mais consumidas

atualmente. O aroma do café é um dos critérios mais importantes na avaliação de sua qualidade e também uma das principais motivações de preferência entre consumidores. Mesmo com mais de cem compostos voláteis e não voláteis já identificados, a pergunta de quanto esses componentes principais contribuem para a qualidade do café ainda gera controvérsias [33].

- ✎ **Mistura de ácidos orgânicos:** Os ácidos orgânicos, também conhecidos como ácidos graxos livres, principalmente os de cadeia curta ou intermediária, contribuem diretamente no aroma de queijo. Estes ácidos de cadeia curta ou intermediária ($C_4 - C_{12}$) têm relativamente um baixo ponto inicial de percepção e cada um contribui com uma nota de aroma característica. Ácido butanóico (C_4) contribui com os aromas de “ranço” e “queijo” enquanto o ácido hexanóico (C_6) tem notas aromáticas de “pungente” e “queijo azul”. Dependendo de sua concentração e seu ponto inicial de percepção, estes ácidos podem contribuir positivamente no aroma ou na imitação do aroma de queijo ou negativamente proporcionando um aroma de ranço [34].

Objetivos

O objetivo deste estudo é avaliar a habilidade da técnica HS-SMSE na amostragem da fração volátil de matrizes de origem vegetal, em particular sálvia (*Salvia lavandulifolia Vahl.*), tomilho (*Thymus vulgaris L.*), café e uma mistura de ácidos orgânicos ($C_2 - C_{10}$).

Os efeitos dos parâmetros que influenciam a eficiência de extração são aqui avaliados incluindo: tempo e temperatura de amostragem, natureza, volume e acidez/basicidade de diferentes solventes orgânicos.

Parte experimental

☞ Instrumentação

Dessorção térmica SMSE e análises GC:

As análises cromatográficas foram realizadas em cromatógrafo a gás Agilent 5890 series II (Agilent, Little Falls, DE, USA) com detector por ionização em chama (FID) acoplado com um sistema de dessorção térmica TDS (Gerstel, Mülheim a/d Ruhr, Alemanha). Algumas análises cromatográficas também foram realizadas em cromatógrafo a gás Agilent 6890 GC- 5973 MS (Agilent, Little Falls, DE, USA), equipado com MPS2 auto-amostrador e sistema de dessorção térmica TDU (Gerstel, Mülheim a/d Ruhr, Alemanha). O MS operou em modo EI a 70 eV. Com temperatura da fonte iônica de 250°C. Os componentes presentes no headspace foram identificados pela comparação de seus espectros de massa com outros de amostras autênticas ou com dados da literatura. As separações cromatográficas foram realizadas em coluna FSOT OV-1 (25 m x 0,25 mm x 0,25 µm; Mega, Milão, IT) para sálvia e tomilho e coluna MEGAWAX (25 m x 0,25 mm x 0,25 µm; Mega, Milão, IT) para café e mistura de ácidos.

☞ Condições cromatográficas

Condições TDS/TDU: dessorção: 40°C até 250°C (5 min) a 60°C min⁻¹; linha de transferência: 250°C. *Sistema Injeção:* injetor Gerstel CIS-4 PTV, fluído criogênico: CO₂, razão split 1:10, temperatura de injeção: -50°C até 280°C (5 min) a 600°C min⁻¹; *Programa de temperatura:* 50°C (1 min) até 180°C a 3°C min⁻¹, 20°C min⁻¹ até 270°C (5 min) para sálvia e tomilho; 20°C (2 min) até 40°C a 5°C min⁻¹, 180°C a 3°C min⁻¹ e 220°C (5 min) a 5°C min⁻¹ para café e 40°C até 220°C a 3°C min⁻¹ para a mistura de ácidos. Hélio foi usado como gás de arraste com fluxo de 1,0 mL min⁻¹.

✎ *Materiais e reagentes*

Amostras homogêneas de folhas secas de sálvia (*Salvia lavandulifolia* Vahl.) e folhas secas de tomilho (*Thymus vulgaris* L.) procedentes do jardim Botânico da Universidade de Torino, Itália. Amostras de café 100% Arabica originárias da Costa Rica. Cinco solventes foram testados como modificadores da polaridade do PDMS, acetato de etila, acetona, metanol, acetonitrila e ciclohexano, todos grau pesticida de Riedel-de Haen (Seelze Germany). Ácidos orgânicos (C₂ - C₁₀) de Sigma-Aldrich. Tubos de PDMS (4 cm de comprimento, 1,5 mm de diâmetro interno, e 0,5 mm de espessura) obtidos de Nalgene (Rochester, NY, USA).

✎ *Amostragem SMSE*

Um tubo de PDMS foi fechado com pequenas esferas de vidro ou pequenos magnetos e o seu volume interno preenchido com diferentes solventes orgânicos. O tubo de PDMS preenchido com solvente é suspenso no headspace da amostra por um tempo fixo. Depois da amostragem, o tubo de PDMS é termicamente dessorvido por um sistema TDS ou TDU e os analitos recuperados introduzidos on-line em um sistema GC-FID ou GC-MS para futura análise.

A quantidade de amostra foi fixada, 20 mg de sálvia, 100 mg de tomilho, 40 mg de café e 10 µL da mistura de ácidos orgânicos (1 mg mL⁻¹). Frascos de 20 mL foram utilizados. A temperatura de extração foi fixada em 50°C com *tempo de extração de 20 min* e 120 µL de solvente para preencher o tubo de PDMS (20 µL para ciclohexano). Todas as análises foram realizadas em triplicata. A eficiência do tudo modificado com diferentes solventes foi comparada ao tudo de PDMS com as mesmas dimensões sem solvente (vazio).

Resultados e discussões

Os compostos selecionados para este estudo em cada matriz foram identificados pela comparação dos espectros de massa obtidos por análise empregando CG-MS (realizadas nas mesmas condições experimentais das análises com CG-FID), com espectros presentes em biblioteca (Wiley7n), através dos índices de retenção de Kovats e por injeção direta do padrão puro de alguns dos compostos disponíveis em laboratório¹⁷.

Princípios da extração sortiva com membrana de silicone (SMSE)

Um desenho esquemático do aparato de SMSE é apresentado na Figura 7.

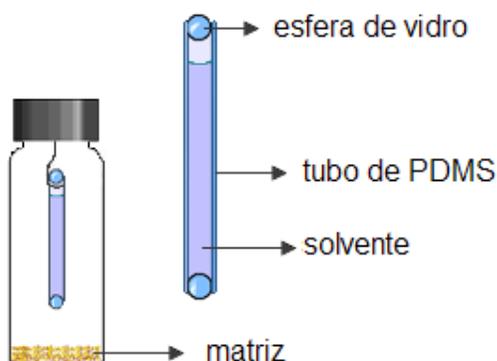


Figura 7. Esquema de amostragem por HS-SMSE.

Um tubo de PDMS (4 cm de comprimento, 1,5 mm de diâmetro interno., e 0,5 mm de espessura) é preenchido com solvente orgânico e suas extremidades fechadas com duas pequenas esferas de vidro.

Hoeck *et al.* [30] realizaram a extração em contato direto com a solução amostra saturada de sal, após o tempo pré-determinado de extração, o solvente dentro do tubo de PDMS era injetado em um sistema de cromatografia a gás com capacidade para grande volume de injeção.

¹⁷ Estruturas químicas e índices de retenção teóricos e experimentais são apresentados em anexo.

Quando a extração foi realizada no headspace da amostra, proposta deste trabalho, o comportamento do solvente dentro do tubo de PDMS se mostrou diverso. Grande parte do solvente atravessou a camada de PDMS, e a quantidade que restou no tubo foi dependente do tipo de solvente usado. Depois da etapa de extração o solvente que permaneceu no tubo foi analisado pela injeção em um sistema CG-FID e não se verificou a presença dos compostos característicos da amostra em estudo. Porém, a dessorção térmica do tubo de PDMS, em um sistema TDS ou TDU e análise por CG-FID ou CG-MS, resultou na presença dos compostos característicos da amostra e com um enriquecimento superior para determinados compostos quando confrontado com a extração realizada com o tubo de PDMS vazio, ou seja, sem o uso de solvente.

Os analitos capturados pelo tubo de PDMS não passam para o solvente interno, mas permanecem na camada polimérica do tubo. Como a presença de solvente orgânico proporciona uma maior eficiência de extração para determinados compostos sugere-se uma modificação das propriedades do PDMS devido à presença deste solvente. Assim, cinco solventes foram testados como modificadores do PDMS, acetato de etila (EtAc), acetona, metanol (MeOH), acetonitrila (MeCN) e ciclohexano.

☞ Tipo de solvente

A influência de diferentes solventes orgânicos no tubo de PDMS foi avaliada usando uma massa de amostra constante (20 mg de sálvia, 100 mg de timo, 40 mg de café e 10 μL de uma solução 1 mg mL^{-1} da mistura de ácidos orgânicos). O tubo de PDMS foi preenchido com cinco diferentes solventes: acetato de etila (EtAc), ciclohexano, acetona, metanol (MeOH) e acetonitrila (MeCN). O volume de solvente colocado dentro do tubo de PDMS foi o volume máximo com o qual não desestabilizava a pressão no momento da dessorção no sistema TDS ou TDU sendo 120 μL para todos os solventes com exceção ao ciclohexano onde se utilizou apenas 20 μL . Depois da

extração, os analitos absorvidos pelo tubo de PDMS, modificado com solvente, foram termicamente desorvidos.

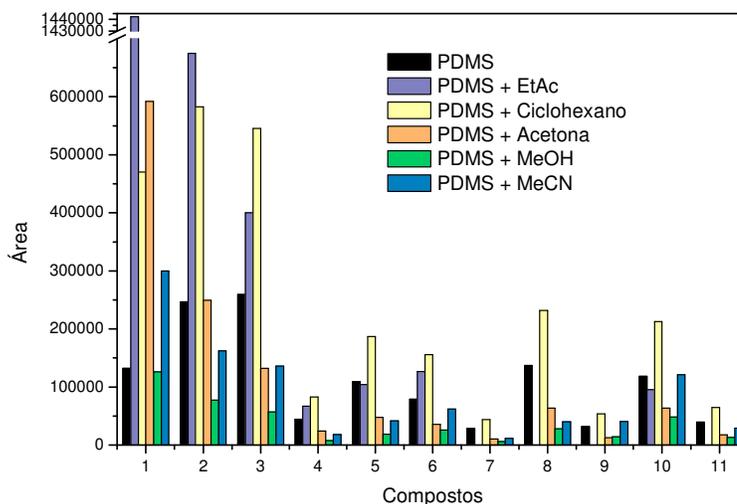


Figura 8. Influência de diferentes solventes orgânicos na área de compostos voláteis de uma amostra de sálvia por HS-SMSE. Compostos: (1) 1,8-Cineol; (2) Canfora; (3) Borneol; (4) 4-Terpineol; (5) α -Terpineol; (6) Acetato de bornila; (7) Timol; (8) Carvacrol; (9) α -Cubebeno; (10) β -Cariofileno; (11) α -Humuleno.

Para avaliar a eficiência do solvente na extração dos compostos das diferentes amostras, uma extração sem solvente (com o tubo de PDMS vazio) também foi realizada. Os resultados para as matrizes sálvia, tomilho e café e são apresentados nas Figuras 8, 9 e 10, respectivamente.

A Figura 8 ilustra a influência de cinco diferentes solventes na extração da parte volátil de uma amostra de sálvia em comparação com um tubo de PDMS sem solvente. O emprego de acetato de etila como solvente-modificador proporcionou um maior enriquecimento para os compostos mais voláteis: 1,8-Cineol, canfora, borneol, 4-terpineol e acetato de bornila. Ciclohexano como solvente modificador mostrou-se eficiente para estes mesmos compostos e também para α -Terpineol, carvacrol e β -Cariofileno. Os outros solventes não apresentaram superior enriquecimento em comparação com o tubo de PDMS sem solvente. Acetona e acetonitrila apresentaram um

bom desempenho apenas para a extração de 1,8-Cineol. Assim, para estudos posteriores com a matriz sálvia optou-se pelo uso de acetato de etila e ciclohexano como solventes-modificadores.

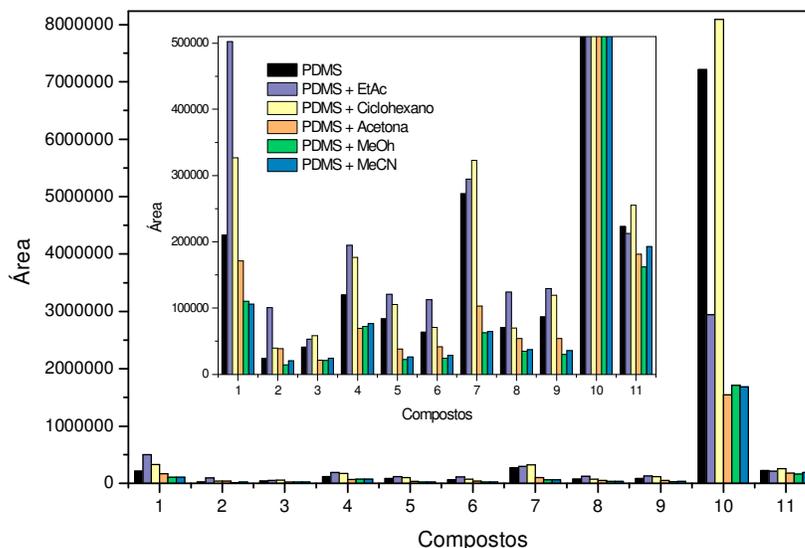


Figura 9. Influência de diferentes solventes orgânicos na área de compostos valâteis de uma amostra de tomilho por HS-SMSE. Compostos: (1) p-Cimeno; (2) 1,8-Cineol ou Eucaliptol; (3) Limoneno; (4) γ -Terpineno; (5) t-Sabineno hidratado; (6) α -Terpinoleno; (7) Linalool; (8) Mentona; (9) Borneol; (10) Timol; (11) β -Cariofileno.

Acetato de etila e ciclohexano foram os solventes mais eficientes como modificadores do PDMS para a matriz tomilho quando comparados com a análise do tubo sem solvente, como ilustra a Figura 9, resultando em uma maior recuperação para quase todos os compostos desta matriz. Porém, o emprego de acetato de etila como solvente-modificador proporciona uma recuperação menor para o composto principal do tomilho, timol, se comparado com a extração sem o emprego de solvente. Os outros solventes, acetona, MeOH e MeCN, não resultaram em maiores recuperações. Assim, os dois solventes, acetato de etila e ciclohexano, foram estudados posteriormente como solventes-modificadores do PDMS para matriz tomilho.

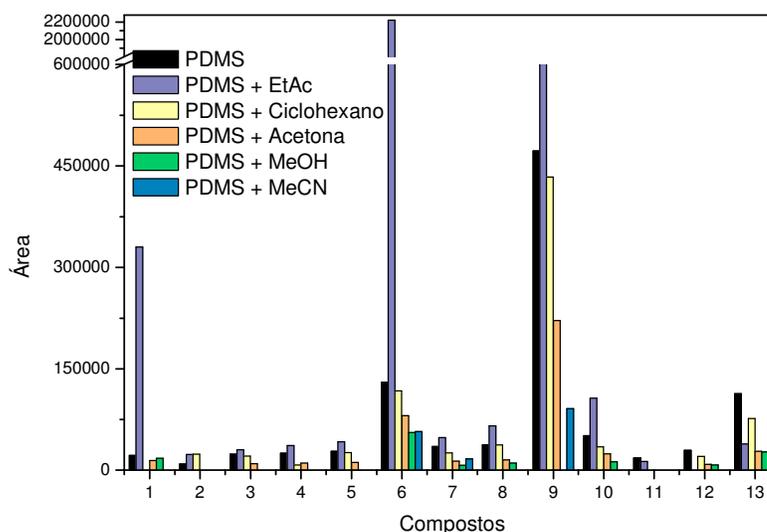


Figura 10. Influência de diferentes solventes orgânicos na área de compostos voláteis de uma amostra de café por HS-SMSE. Compostos: (1) Piridina; (2) 2-Metil Pirazina; (3) 2,5-Dimetil Pirazina; (4) 2,6-Dimetil Pirazina; (5) 2-Etil 5-Metil Pirazina; (6) Ácido Acético; (7) Furfural; (8) Acetato de furfurila; (9) Alcool furfurilico; (10) 2-Acetil 3-Metil Pirazina; (11) 2-Metoxi Fenol; (12) Fenol, 4-Etil 2-Metoxi; (13) 2-Metoxi 4-Vinil Fenol.

Para a matriz café, Figura 10, somente acetato de etila apresentou melhores recuperações, provavelmente devido a sua polaridade compatível com os compostos do café, proporcionando um aumento na extração de 10 dos 13 compostos investigados para esta matriz se confrontado com o tubo de PDMS sem solvente.

☞ Influência da acidez e basicidade do meio

Para a extração da mistura de ácidos orgânicos avaliou-se a eficiência de acetato de etila como solvente PDMS-modificador além de diferentes condições de pH: acetato de etila a pH 8 (com solução de amônia), acetato de etila a pH 4 (com solução de ácido acético) e água a pH 8. Significativos resultados foram obtidos, para os ácidos: acético,

propanóico e butanóico quando acetato de etila (sem alteração de pH) e acetato de etila a pH 8 foram usados como solventes modificadores do PDMS, como ilustrado pela Figura 11.

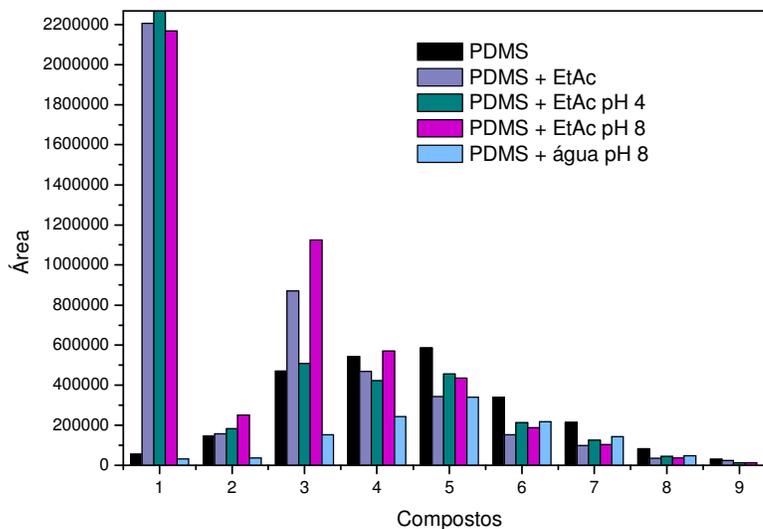


Figura 11. Influência da acidez e basicidade do meio na extração de ácidos orgânicos por HS-SMSE. Ácidos: (1) Acético;(2) Propanóico; (3) Butanóico; (4) Pentanóico; (5) Hexanóico; (6) Heptanóico; (7) Octanóico; (8) Nonanóico; (9) Decanóico.

☞ Contribuição do solvente

A contribuição do solvente na recuperação dos analitos expressa como $\Delta RA\%$, foi determinada usando a Eq. (1).

$$\Delta RA\% = \frac{A_{i(PDMS+solvente)} - A_{i(tss)}}{A_{i(tss)}} * 100 \quad (\text{Eq. 1})$$

Tabela 1. Recuperações para sálvia, tomilho e café em comparação com o tubo sem solvente.

Compostos	$\Delta RA\%$				
	EtAc	Acetona	MeOH	MeCN	Ciclohex.
Sálvia					
1,8-Cineol	993	349	-5	318	326
Canfora	174	1	-69	-34	98
Borneol	54	-49	-78	-53	66
4-Terpineol	50	-47	-83	-64	52
α -Terpineol	-4	-56	-83	-64	32
Acetato de bornila	60	-55	-67	-36	37
Timol	**	-64	-79	-62	19
Carvacrol	**	-53	-80	-70	31
α -Cubebeno	**	-59	-55	5	10
β -cariofileno	-19	-46	-59	-1	36
α -Humuleno	**	-56	-68	-27	17
Tomilho					
<i>p</i> -Cimeno	139	-19	-48	-50	55
1,8-Cineol	324	62	-40	-13	67
Limoneno	30	-48	-49	-42	41
γ -Terpineno	63	-42	-40	-36	47
<i>t</i> -Sabineno hidratado	44	-54	-74	-69	26
α -Terpinoleno	78	-34	-62	-54	12
Linalool	8	-62	-77	-76	19
Mentona	76	-23	-51	-47	-1
Borneol	49	-38	-65	-59	38
Timol	-59	-79	-76	-77	12
β -Cariofileno	-5	-19	-27	-13	15
Café					
Piridina	1397	-36	-21	**	**
2-Metil Pirazina	153	**	**	**	158
2,5-Dimetil Pirazina	30	-59	**	**	-11
2,6-Dimetil Pirazina	43	-58	**	**	-70
2-Etil 5-Metil Pirazina	50	-59	**	**	-7
Ácido Acético	1609	-38	-57	**	-10
Furfural	38	-61	-79	**	-27
Acetato de furfurila	75	-59	-72	**	0
Alcool furfurilico	96	-53	**	**	-8
2-Acetil 3-Metil Pirazina	109	-53	-76	**	-32
2-Metoxi Fenol	-30	**	**	**	**
Fenol, 4-Etil 2-Metoxi	**	-71	-74	**	-31
Fenol, 2-Metoxi 4 Vinil	-66	-75	-76	15	-32

** não detectável.

A área de pico de cada composto com o tubo de PDMS sem solvente ($A_{i(tss)}$) é subtraída da área de pico obtida com o tubo de PDMS modificado com solvente ($A_{i(PDMS+solvente)}$) e dividido pela área de pico do tubo de PDMS sem solvente ($A_{i(tss)}$). A Tabela 1 apresenta os valores de $\Delta RA\%$ obtidos para sálvia, tomilho e café.

A contribuição do solvente e de diferentes pH na extração da mistura de ácidos orgânicos é apresentada na Tabela 2. Pode-se verificar que a presença de amônia no solvente acetato de etila proporciona uma maior recuperação dos três primeiros ácidos: acético, propiônico e butanóico.

Tabela 2. Recuperações para a mistura de ácidos orgânicos em relação ao tubo de PDMS sem solvente.

Ácidos	$\Delta RA\%$			
	EtAc	EtAc pH 8	EtAc pH 4	Água pH 8
Acético	3885	3816	*	-41
Propiônico	8	72	26	-75
Butanóico	85	139	8	-67
Pentanóico	-13	5	-22	-55
Hexanóico	-42	-26	-22	-42
Heptanóico	-55	-45	-37	-36
Octanóico	-54	-51	-42	-34
Nonanóico	-58	-55	-46	-42
Decanóico	-27	-61	-61	**

* pH ajustado com ácido acético. ** não detectável.

O acetato de etila é o solvente PDMS-modificador que se mostrou eficiente para todas as matrizes e, o ciclohexano que apresentou uma eficiente recuperação para as matrizes sálvia e tomilho.

☞ *Influência do tempo de extração*

A influência do tempo de extração para o tubo modificado com solvente também foi avaliado, selecionando o solvente que se mostrou mais efetivo para cada matriz, acetato de etila e ciclohexano para sálvia e tomilho, acetato de etila para café e acetato de etila a pH 8 para a mistura de ácidos. Os tempos de extração avaliados foram 1, 20, 40, 60 e 120 minutos.

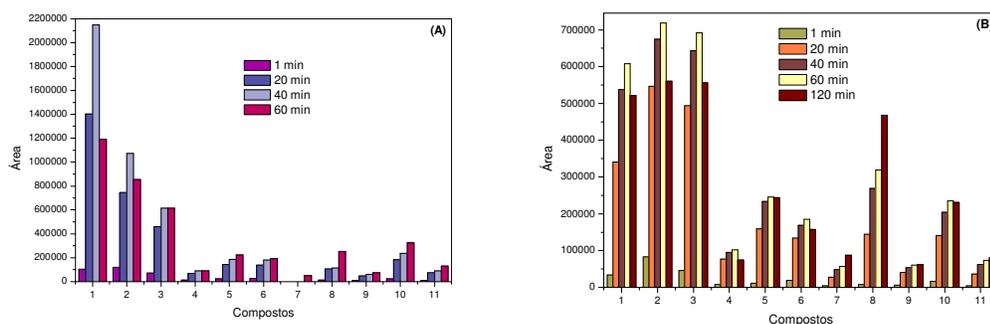


Figura 12. Influência do tempo de extração para sálvia por HS-SMSE, usando acetato de etila (A) e ciclohexano (B) como solvente-modificador. Compostos: (1) p-Cimeno; (2) 1,8-Cineol ou Eucaliptol; (3) Limoneno; (4) γ -Terpineno; (5) t-Sabineno hidratado; (6) α -Terpinoleno; (7) Linalool; (8) Mentona; (9) Borneol; (10) Timol; (11) β -Cariofileno.

Para a sálvia o tempo de extração usando acetato de etila como solvente-modificador foi avaliado de 1 a 60 minutos, pois com 60 minutos de extração já se verificou uma queda na área dos compostos com maior recuperação em relação ao tubo de PDMS sem solvente. Como pode ser verificado através da Figura 12A, com 40 minutos de extração obtem-se uma maior eficiência de extração para os compostos mais voláteis. Com o emprego de ciclohexano como solvente-modificador, Figura 12B, o tempo de extração de 60 minutos é o que fornece maior recuperação para os compostos mais voláteis.

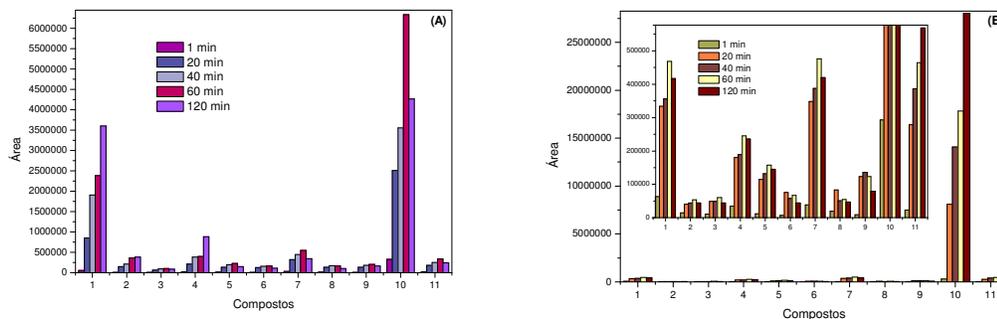


Figura 13. Influência do tempo de extração para tomilho por HS-SMSE, usando acetato de etila (A) e ciclohexano (B) como solvente PDMS-modificador. Compostos: (1) p-Cimeno; (2) 1,8-Cineol ou Eucaliptol; (3) Limoneno; (4) γ -Terpineno; (5) t-Sabineno hidratado; (6) α -Terpinoleno; (7) Linalool; (8) Mentona; (9) Borneol; (10) Timol; (11) β -Cariofileno.

Para a matriz tomilho, empregando acetato de etila, Figura 13A, e ciclohexano, Figura 13B, o tempo de extração onde se verificou maior recuperação variou de 60 a 120 minutos. Para o principal composto da matriz tomilho (timol), o acetato de etila apresentou uma maior recuperação com 60 minutos de extração e ciclohexano com 120 minutos de extração.

Para a matriz café, o tempo de extração foi avaliado aplicando acetato de etila como solvente-modificador, Figura 14. Para quase todos os compostos verificou-se uma maior eficiência de extração com o emprego de 60 minutos de extração.

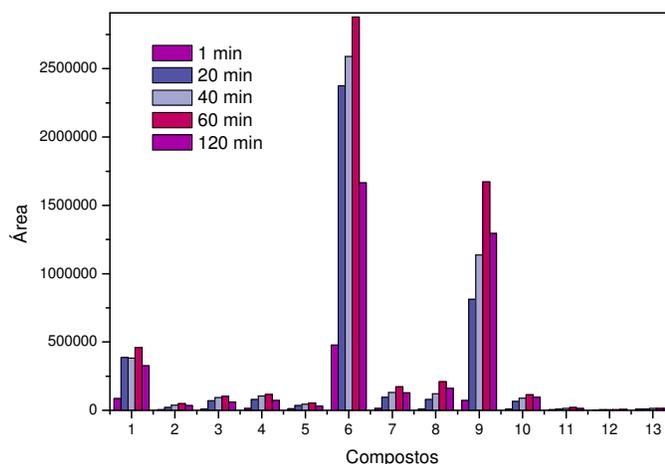


Figura 14. Influência do tempo de extração para café por HS-SMSE, usando acetato de etila como solvente PDMS-modificador. Compostos: (1) Piridina; (2) 2-Metil Pirazina; (3) 2,5-Dimetil Pirazina; (4) 2,6-Dimetil Pirazina; (5) 2-Etil 5-Metil Pirazina; (6) Ácido Acético; (7) Furfural; (8) Acetato de furfurila; (9) Alcool furfurílico; (10) 2-Acetil 3-Metil Pirazina; (11) 2-Metoxi Fenol; (12) Fenol, 4-Etil 2-Metoxi; (13) 2-Metoxi 4-Vinil Fenol.

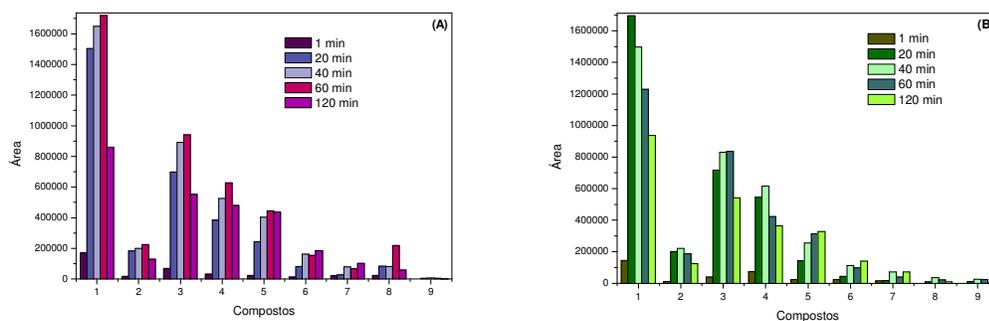


Figura 15. Influência do tempo de extração para a mistura de ácidos orgânicos por HS-SMSE, usando acetato de etila (A) e acetato de etila a pH 8 (B) como solvente PDMS-modificador. Ácidos: (1) Acético; (2) Propanóico; (3) Butanóico; (4) Pentanóico; (5) Hexanóico; (6) Heptanóico; (7) Octanóico; (8) Nonanóico; (9) Decanóico.

Para a mistura de ácidos orgânicos avaliou-se a influência do tempo de extração empregando acetato de etila (sem modificação de pH) e acetato de etila a pH 8 como solventes PDMS-modificadores. Para os três primeiros compostos de interesse, onde a presença de solvente apresenta maiores recuperações, não se verificou grande influência na recuperação após 20 minutos de extração. Com acetato de etila, Figura 15A, um pequeno aumento no sinal é apresentado com 60 minutos de extração. Com acetato de etila a pH 8, Figura 15B, para ácido acético 20 minutos de extração apresentou um maior sinal analítico.

✎ Repetitividade

A repetitividade foi avaliada por cinco replicadas para cada matriz investigada. As Tabelas 3 e 4 reportam o desvio padrão relativo para os compostos de cada matriz, avaliando sempre o solvente que apresentou a melhor recuperação para cada amostra.

Tabela 3. Repetitividade na extração de sálvia e tomilho por HS-SMSE .

	RSD, %			RSD, %	
	EtAc	Ciclohex.		EtAc	Ciclohex.
Sálvia			Tomilho		
Cineol (1,8)	11,1	12,3	<i>p</i> -Cimeno	6,7	5,7
Canfora	12,4	6,3	Cineol (1,8)	13,3	8,6
Borneol	7,5	6,9	Limoneno	9,2	9,1
4-Terpineol	5,5	9,1	γ -Terpineno	7,3	6,5
α -Terpineol	11,3	9,9	<i>t</i> -Sabineno hidrat.	11,6	7,0
Acetato bornila	9,2	5,8	α -Terpinoleno	7,6	7,9
Timol	-	11,6	Linalool	8,9	7,7
Carvacrol	-	12,1	Mentona	12,1	5,9
α -Cubebeno	-	7,1	Borneol	8,6	16,7
β -cariofileno	12,9	8,3	Timol	16,5	8,7
α -Humuleno	-	10,7	β -Cariofileno	12,8	6,7

Como pode ser verificado através das Tabelas 20 e 21, os valores de desvio padrão obtidos para todas as matrizes, com extração por HS-SMSE, estão dentro da faixa de RSD aceitável para amostragens a partir do headspace da amostra. A faixa de RSD para sálvia foi 5,5 - 12,9% e 5,8 - 12,3% para acetato de etila e ciclohexano como solventes PDMS-modificadores, respectivamente. Para tomilho a faixa de RSD foi 6,7 - 16,5% e 5,7 - 16,7% para acetato de etila e ciclohexano como solventes PDMS-modificadores, respectivamente. Para café a faixa de RSD variou de 8,0 - 14,4%. Para a mistura de ácidos orgânicos obteve-se uma variação de RSD de 7,9 - 17,2% e 9,6 - 16,0% para acetato de etila e acetato de etila a pH 8 como solventes PDMS-modificadores, respectivamente.

Tabela 4. Repetitividade na extração de café e ácidos orgânicos por HS-SMSE.

Café	RSD, %		RSD, %	
	EtAc	Ácidos	EtAc	EtAc pH 8
Piridina	13,2	Acético	17,2	9,6
2-Metil Pirazina	14,4	Propanóico	9,3	16,0
2,5-Dimetil Pirazina	9,2	Butanóico	7,9	12,8
2,6-Dimetil Pirazina	8,0	Pentanóico	10,1	10,8
2-Etil 5-Metil Pirazina	10,1	Hexanóico	11,1	13,0
Ácido Acético	13,2	Heptanóico	12,4	12,6
Furfural	10,0	Octanóico	10,7	13,8
Acetato de furfurila	12,8	Nonanóico	-	11,5
Alcool furfurilico	11,0	Decanóico	-	-
2-Acetil 3-Metil Pirazina	11,0			
2-Metoxi Fenol	9,2			
Fenol, 4-Etil 2-Metoxi	-			
2-Metoxi 4-Vinil Fenol	9,4			

O perfil cromatográfico obtido pela extração de uma amostra de café por HS-SMSE é apresentado na Figura 16. Onde, pode-se observar a diferença no perfil cromatográfico para uma extração com o tubo de PDMS modificado com o uso de acetato de etila e uma extração com o tubo de PDMS sem solvente (tubo vazio).

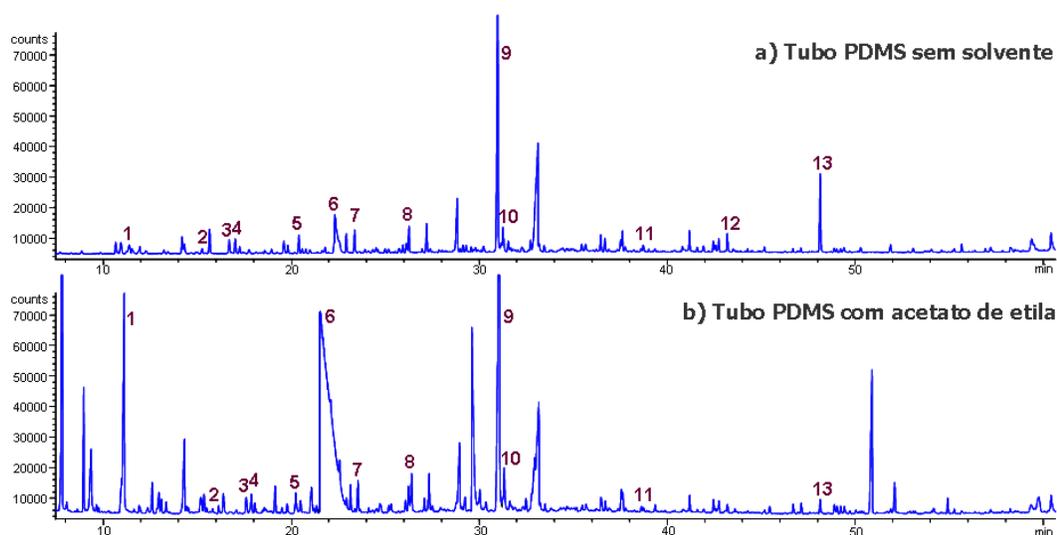


Figura 16. Perfil cromatográfico de café obtido com a) tubo PDMS sem solvente e b) tubo PDMS com acetato de etila. Picos identificados: (1) Piridina; (2) 2-Metil Pirazina; (3) 2,5-Dimetil Pirazina; (4) 2,6-Dimetil Pirazina; (5) 2-Etil 5-Metil Pirazina; (6) Ácido Acético; (7) Furfural; (8) Acetato de furfurila; (9) Alcool furfurílico; (10) 2-Acetil 3-Metil Pirazina; (11) 2-Metoxi Fenol; (12) Fenol, 4-Etil 2-Metoxi; (13) 2-Metoxi 4-Vinil Fenol.

Conclusões

- ✎ O novo aparato para extração sortiva, extração sortiva com membrana de silicone (SMSE), foi aplicado com sucesso e pela primeira vez neste trabalho na amostragem a partir do headspace de diversas matrizes.

Acetato de etila e ciclohexano foram os solventes mais eficientes na modificação do PDMS para sálvia e tomilho, acetato de etila para café e

acetato de etila e acetato de etila a pH 8 para a mistura de ácidos orgânicos. O uso de solventes para modificar as propriedades do PDMS promove melhores recuperações e, como consequência, uma maior sensibilidade, resulta em uma simples e eficiente maneira para modificar as suas propriedades e estender a sua aplicabilidade. A maior vantagem de HS-SMSE inclui simplicidade, enriquecimento da amostra, baixo uso de solventes, baixo custo e maior aplicabilidade a matrizes complexas contendo compostos altamente voláteis.

Referências bibliográficas

1. Bicchi C., Iori C., Rubiolo P., Sandra P. *Headspace Sorptive Extraction (HSSE), Stir Bar Sorptive Extraction (SBSE), and Solid Phase Microextraction (SPME) Applied to the Analysis of Roasted Arabica Coffee and Coffee Brew*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2002. **50**(3): p. 449-459.
2. Baltussen E., Sandra P., David F., Cramers C. *Stir bar sorptive extraction (SBSE), a novel extraction technique for aqueous samples: Theory and principles*. Journal of Microcolumn Separations, 1999. **11**(10): p. 737-747.
3. Kawaguchi M., Ito R., Saito K., Nakazawa H. *Novel stir bar sorptive extraction methods for environmental and biomedical analysis*. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2006. **40**(3): p. 500-508.
4. Bicchi C., Cordero C., Liberto E., Rubiolo P., Sgorbini B., David F., Sandra P. *Dual-phase twistors: A new approach to headspace sorptive extraction and stir bar sorptive extraction*. Journal of Chromatography A, 2005. **1094**(1-2): p. 9-16.
5. Sgorbini B. *Studio della composizione della frazione volatile e semivolatile di matrici di origine vegetale di interesse alimentare, cosmetico e farmaceutico mediante tecniche di campionamento senza solvente*. Tesi di Dottorato, 2005. Università degli Studi di Torino, Dipartimento di Scienza e tecnologia del Farmaco.

6. León V.M., Llorca-Pórcel J., Álvarez B., Cobollo M.A., Muñoz S., Valor I. *Analysis of 35 priority semivolatile compounds in water by stir bar sorptive extraction-thermal desorption-gas chromatography-mass spectrometry: Part II: Method validation*. *Analytica Chimica Acta*, 2006. **558**(1-2): p. 261-266.
7. Popp P., Bauer C., Wennrich L. *Application of stir bar sorptive extraction in combination with column liquid chromatography for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in water samples*. *Analytica Chimica Acta*, 2001. **436**(1): p. 1-9.
8. Serodio P., Nogueira J.M.F. *Considerations on ultra-trace analysis of phthalates in drinking water*. *Water Research*, 2006. **40**(13): p. 2572-2582.
9. Montero L., Conradi S., Weiss H., Popp P. *Determination of phenols in lake and ground water samples by stir bar sorptive extraction-thermal desorption-gas chromatography-mass spectrometry*. *Journal of Chromatography A*, 2005. **1071**(1-2): p. 163-169.
10. Zalacain A., Marín J., Alonso G.L., Salinas M.R. *Analysis of wine primary aroma compounds by stir bar sorptive extraction*. *Talanta*, 2007. **71**(4): p. 1610-1615.
11. Díez J., Domínguez C., Guillén D.A., Veas R., Barroso C.G. *Optimisation of stir bar sorptive extraction for the analysis of volatile phenols in wines*. *Journal of Chromatography A*, 2004. **1025**(2): p. 263-267.
12. Rial-Otero R., Gaspar E.M., Moura I., Capelo J.L. *Chromatographic-based methods for pesticide determination in honey: An overview*. *Talanta*, 2007. **71**(2): p. 503-514.
13. Kende A., Csizmazia Z., Rikker T., Angyal V., Torkos K. *Combination of stir bar sorptive extraction-retention time locked gas chromatography-mass spectrometry and automated mass spectral deconvolution for pesticide identification in fruits and vegetables*. *Microchemical Journal*, 2006. **84**(1-2): p. 63-69.
14. Sandra P., Tienpont B., David F. *Multi-residue screening of pesticides in vegetables, fruits and baby food by stir bar sorptive extraction-thermal*

- desorption-capillary gas chromatography-mass spectrometry*. Journal of Chromatography A, 2003. **1000**(1-2): p. 299-309.
15. Bicchi C., Cordero C., Rubiolo P., Sandra P. *Stir bar sorptive extraction (SBSE) in sample preparation from heterogeneous matrices: determination of pesticide residues in pear pulp at ppb (ng/g) level*. Europa Food Research Technology, 2003. **216**: p. 449-456.
 16. Almeida C., Nogueira J.M.F. *Determination of steroid sex hormones in water and urine matrices by stir bar sorptive extraction and liquid chromatography with diode array detection*. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2006. **41**(4): p. 1303-1311.
 17. Kawaguchi M., Ito R., Hayatsu Y., Nakata H., Sakui N., Okanouchi N., Saito K., Yokota H., Izumi S.-i., Makino T., Nakazawa H. *Stir bar sorptive extraction with in situ de-conjugation and thermal desorption gas chromatography-mass spectrometry for measurement of 4-nonylphenol glucuronide in human urine sample*. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2006. **40**(1): p. 82-87.
 18. Stopforth A., Burger B.V., Crouch A.M., Sandra P. *Urinalysis of 4-hydroxynonenal, a marker of oxidative stress, using stir bar sorptive extraction-thermal desorption-gas chromatography/mass spectrometry*. Journal of Chromatography B, 2006. **834**(1-2): p. 134-140.
 19. Rodil R., Popp P. *Development of pressurized subcritical water extraction combined with stir bar sorptive extraction for the analysis of organochlorine pesticides and chlorobenzenes in soils*. Journal of Chromatography A, 2006. **1124**(1-2): p. 82-90.
 20. Liu W., Wang H., Guan Y. *Preparation of stir bars for sorptive extraction using sol-gel technology*. Journal of Chromatography A, 2004. **1045**(1-2): p. 15-22.
 21. Baltussen E., Cramers C.A., Sandra P.J.F. *Sorptive sample preparation – a review*. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2002. **373**: p. 3-22.
 22. Lambert J.-P., Mullett W.M., Kwong E., Lubda D. *Stir bar sorptive extraction based on restricted access material for the direct extraction of caffeine and metabolites in biological fluids*. Journal of Chromatography A, 2005. **1075**(1-2): p. 43-49.

23. Schellin M., Hauser B., Popp P. *Determination of organophosphorus pesticides using membrane-assisted solvent extraction combined with large volume injection-gas chromatography-mass spectrometric detection*. Journal of Chromatography A, 2004. **1040**: p. 251-258.
24. Hauser B., Schellin M., Popp P. *Membrane-Assisted Solvent Extraction of triazines, organochlorine, and organophosphorus compounds in complex samples combined with large-volume injection-gas chromatography/mass spectrometric detection*. Analytical Chemistry, 2004. **76**: 6029-6038.
25. Schellin M., Popp P. *Membrane-assisted solvent extraction of polychlorinated biphenyls in river water and other matrices combined with large volume injection-gas chromatography-mass spectrometric detection*. Journal of Chromatography A, 2003. **1020**: p. 153-160.
26. Hauser B., Popp P., Kleine-Benne E. *Membrane-assisted solvent extraction of triazines and other semi-volatile contaminants directly coupled to large-volume injection-gas chromatography-mass spectrometric detection*. Journal of Chromatography A, 2002. **963**: p. 27-36.
27. Schellin M., Popp P. *Membrane-assisted solvent extraction of seven phenols combined with large volume injection-gas chromatography-mass spectrometric detection*. Journal of Chromatography A, 2005. **1072**: p. 37-43.
28. Schellin M., Popp P. *Miniaturized membrane-assisted solvent extraction combined with gas chromatography/electron-capture detection applied to the analysis of volatile organic compounds*. Journal of Chromatography A, 2006. **1103**: p. 211-218.
29. Jánská M., Lehotay S.J., Mastovska K., Hajslová J., Alon T., Amirav A. *A simple and inexpensive "solvent in silicone tube extraction" approach and its evaluation in the gas chromatographic analysis of pesticides in fruits and vegetables*. Journal of Separation Science, 2006. **29**: p. 66-80.
30. Hoeck E.V., David F., Dumont E., Sandra P. *Determination of atrazine and its metabolites in aqueous samples using silicone membrane sorptive extraction (SMSE) followed by LC-MS*. In press, 2008.

31. Houghton P.J. *Activity and Constituents of sage relevant to the potential treatment of symptoms of Alzheimer's disease*. HerbalGram, 2004. **61**: p. 38-53.
32. Fecka I., Turek S. *Determination of polyphenolic compounds in commercial herbal drugs and spices from Lamiaceae: thyme, wild thyme and sweet marjoram by chromatographic techniques*. Food Chemistry, 2008. **108**: p. 1039-1053.
33. Farah A., Monteiro M.C., Calado V., Franca A.S., Trugo L.C. *Correlation between cup quality and chemical attributes of Brazilian coffee*. Food Chemistry, 2006. **98**: p. 373-380.
34. Noronha N., Cronin D.A., O'Riordan E.D., O'Sullivan M. *Flavouring of imitation cheese with enzyme-modified cheeses (EMCs): Sensory impact and measurement of aroma active short chain fatty acids (SCFAs)*. Food Chemistry, 2008. **106**: p. 905-913.

Simbologias e abreviações

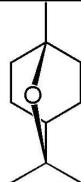
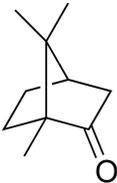
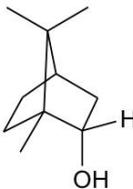
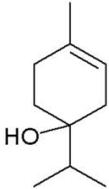
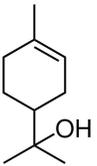
ADS	Alquil-diol-sílica
AMTEOS	Anilinametiltrietoxissilano
BMA	Butilmetacrilato
BTEX	Benzeno, tolueno, etilbenzeno e xileno
CAR	Carboxen
CE	Eletroforese capilar (<i>capillary eletroforese</i>)
CIS	Cryo Injection System
CP	Clorofenóis (<i>chlorophenols</i>)
CW	Carbowax
DDD	Diclorodifenildicloroetano
DDE	Diclorodifenildicloroetileno
DL	Dessorção líquida
DT	Dessorção térmica
DVB	Divinilbenzeno
EDS	Espectroscopia de energia dispersiva (<i>energy dispersive spectroscopy</i>)
ECD	Detector por captura de elétrons (<i>electron capture detector</i>)
EPA	Agência de Proteção Ambiental (<i>Environmental Protection Agency</i>)
ER	Eletrodo de referência
EtAc	Acetato de etila (<i>ethyl acetate</i>)
FID	Detector por ionização em chama (<i>flame ionization detector</i>)
GC	Cromatografia gasosa (<i>gas chromatography</i>)
HPLC	Cromatografia líquida da alta eficiência (<i>high performance liquid chromatography</i>)

HS	Headspace
HSSE	Extração sortiva no headspace (<i>headspace sortive extraction</i>)
LD	Limite de detecção
LQ	Limite de quantificação
MAE	Extração assistida por microondas (<i>microwave-assisted extraction</i>)
MeCN	Acetonitrila
MeOH	Metanol
MEPS	Microextração em seringa empacotada (<i>microextraction in packed syringe</i>)
MASE	Extração com solvente assistida por membrana (<i>membrane-assisted solvent extraction</i>)
MIP	Impressão molecular de polímero (<i>molecular imprinted polymer</i>)
MS	Espectrometria de Massas (<i>Mass Spectrometer</i>)
MTMOS	Metiltrimetoxisilano
OCP	Pesticidas organoclorados (<i>organochlorine pesticides</i>)
PA	Poliacrilato
PAH	Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (<i>polycyclic aromatic hydrocarbon</i>)
PBDE	Ésteres difenilpolibromados (<i>polybrominated diphenyl ethers</i>)
PCB	Bifenilas policloradas (<i>polychlorinated biphenyls</i>)
PCP	Pentaclorofenol (<i>pentachlorophenol</i>)
PDMS	Polidimetilsiloxano
PDMS-OH	Polidimetilsiloxano hidróxi terminal
PEG	Polietilenoglicol
PMHS	Polimetilhidrosiloxano
PMPS	Polimetilfenilsiloxano
PM-β-CD	Permetilado-β-Ciclodextrina
PPMS	Polifenilmetilsiloxano
PVA	Polivinilalcool

PCA	Pentacloroanisol
RAM	Material de acesso restrito (<i>restricted access material</i>)
RSD	Desvio padrão relativo (<i>relative standard deviation</i>)
SE	Extração sortiva (<i>sorptive extraction</i>)
SBSE	Extração sortiva em barra magnética (<i>stir bar sorptive extraction</i>)
SDME	Extração com microgota (<i>single-drop microextraction</i>)
SEM	Microscopia eletrônica de varredura (<i>Scanning electron microscope</i>)
SiSTEx	Extração com solvente em tubo de silicone (<i>solvent in silicone tube extraction</i>)
SMSE	Extração sortiva com membrana de silicone (<i>silicane membrane sorptive extraction</i>)
SPE	Extração em fase sólida (<i>solid phase extraction</i>)
SPME	Microextração em fase sólida (<i>solid phase microextraction</i>)
TBA	Tribromoanisol
TBP	Tribromofenol (<i>tribromophenol</i>)
TBOT	Tetra-n-butilortotitanato
TCA	Tricloroanisol
TCP	Triclorofenol (<i>trichlorophenol</i>)
TDS	Sistema de dessorção térmica (<i>Thermal Desorption System</i>)
TDU	Unidade de dessorção térmica (<i>Thermal Desorption Unit</i>)
TeCA	Tetracloroanisol
TFA	Ácido trifluoroacético (<i>trifluoroacetic acid</i>)
THM	Trihalometano
TMSPA	Trimetoxisilil polilamina
TMSPMA	Trimetoxisilil-propil-metacrilato
VOC	Compostos orgânicos voláteis (<i>volatile organic compounds</i>)
δ	Derivada parcial.
E_t	Potencial de transpassivação
Δ RA	Contribuição do solvente na recuperação dos analitos

Anexos

Tabela I. Compostos identificados na extração de sálvia (*Salvia lavandulifolia Vahl.*).

Compostos	IK teórico	IK experiment.	Estrutura química
1,8-Cineol (Eucaliptol)	1016,1	1018,2	
Canfora	1111,5	1115,0	
Borneol	1142,9	1148,4	
4-Terpineol	1158,2	1158,5	
α -Terpineol	1168,3	1171,4	

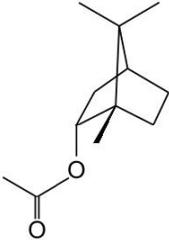
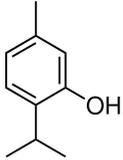
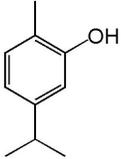
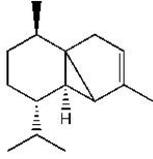
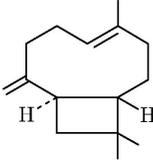
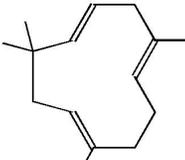
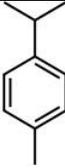
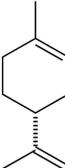
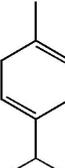
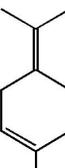
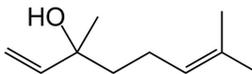
Acetato de bornila	1264,3	1265,1	
Timol	1272,7	1272,5	
Carvacrol	1279,0	1283,8	
α -Cubebeno	1363,0	1364,4	
β -Cariofileno	1400,7	1402,2	
α -Humuleno	1433,8	1434,5	

Tabela II. Compostos identificados na extração de tomilho (*Thymus vulgaris* L.).

Compostos	IK _{teórico}	IK _{experiment.}	Estrutura química
<i>p</i> -Cimeno	1010,1	1009,4	
1,8-Cineol	1016,1	1015,6	
Limoneno	1019,1	1018,4	
γ -Terpineno	1049,4	1048,6	
<i>t</i> -Sabineno	1053,0	1051,7	
α -Terpinoleno	1076,8	1079,4	
Linalool	1084,5	1086,5	

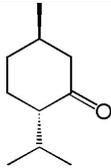
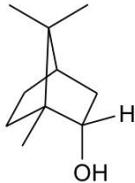
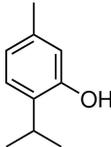
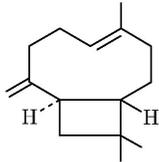
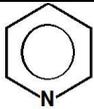
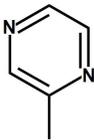
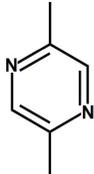
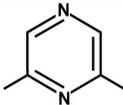
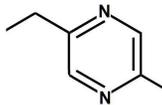
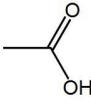
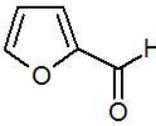
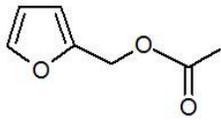
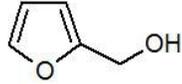
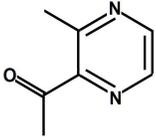
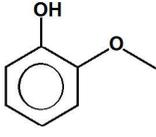
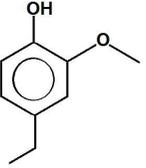
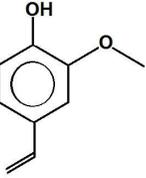
Mentona	1127,5	1126,7	
Borneol	1142,9	1142,9	
Timol	1272,7	1288,6	
β -Cariofileno	1400,7	1448,4	

Tabela III. Compostos identificados na extração de café.

Compostos	IK teórico	IK experiment.	Estrutura química
Piridina	1193 I	1192,7	
2-Metil Pirazina	1270	1269,0	
2,5-Dimetil Pirazina	1290 L	1298,7	

2,6-Dimetil Pirazina	1300 L	1306,3	
2-Etil 5-Metil Pirazina	1383 l	1384,0	
Ácido Acético	1429 L	1429,0	
Furfural	1447 L	1444,1	
Acetato de furfurila	1518 L	1524,1	
Alcool furfurilico	1646 L	1646,6	
2-Acetil 3-Metil Pirazina	1636 l	1654,0	
2-Metoxi Fenol (guaiacol)	1860 l	1859,5	
Fenol, 4-Etil 2-Metoxi	2000 L	1997,3	
2-Metoxi 4-Vinil Fenol	2189 l	2157,9	

CURRICULUM VITAE

Fevereiro/2009

FORMAÇÃO ACADÊMICA/TITULAÇÃO

2005 - 2009 **Doutorado em Química.**

Universidade Federal de Santa Catarina, UFSC, Florianópolis, Brasil

Título: *Desenvolvimento e aplicação de fases extratoras para técnicas de preparação de amostras.*

Orientador: Eduardo Carasek da Rocha.

Bolsista do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

2007 - 2008 **Doutorado Sanduíche no Exterior.**

Università di Torino – UNITO – Turim, Itália

Título: *Headspace Silicon Membrane Sorptive Extraction (HS-SMSE) in the analysis of the volatile fraction of matrices of vegetable origin.*

Orientador: Dr. Carlo Bicchi

Bolsista do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

2003 - 2005 **Mestrado em Química.**

Universidade Federal de Santa Catarina, UFSC, Florianópolis, Brasil

Título: *Desenvolvimento de método para a determinação de trihalometanos em águas de Florianópolis - SC usando Purge & Trap e cromatografia gasosa.*

Orientador: Eduardo Carasek da Rocha
Bolsista do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

2003 - 2005 **Graduação em Química - Licenciatura.**

Orientador: Eduardo Carasek da Rocha

1999 - 2003 **Graduação em Química Bacharelado.**

Universidade Federal de Santa Catarina, UFSC, Florianópolis, Brasil

Título: *Utilização do óxido de nióbio (V) quimicamente ligado à superfície da sílica gel na determinação de Cu e Cd em matrizes aquosas por espectrometria de absorção atômica.*

Orientador: Dr Eduardo Carasek da Rocha

Bolsista do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

FORMAÇÃO COMPLEMENTAR

2001 - 2001 Curso de curta duração em **Noções Básicas de Segurança em Laboratório.**

Universidade Federal de Santa Catarina, UFSC, Florianópolis, Brasil

2003 - 2003 **Espectrometria de Absorção Atômica.**

Universidade Federal de Santa Catarina, UFSC, Florianópolis, Brasil.

2003 - 2003 Curso de curta duração em **Introdução à Química Forense.**

Sociedade Brasileira de Química, SBQ, Brasil

2004 - 2004 Curso de curta duração em **Petróleo, Em Caso de Derrame o Que Analisar?**

Universidade Federal de Santa Catarina, UFSC, Florianópolis, Brasil

2004 - 2004 **Treinamento Operacional Saturno 2100d e Ms Wor 6 2.**

Varian Industria e Comércio Ltda, VARIAN, Brasil

2004 - 2004 **Treinamento Operacional Tekmar 3100 Purge & Trap.**

Varian Industria e Comércio Ltda, VARIAN, Brasil

- 2005 - 2005 **Poluentes Orgânicos Persistentes.**
Universidade Federal Fluminense, UFF, Niteroi, Brasil
- 2005 - 2005 **Técnicas de Extração e Pré-concentração para**
Universidade Estadual de Campinas, UNICAMP, Campinas, Brasil
- 2005 - 2005 **Contaminação ambiental por metais pesados.**
Sociedade Brasileira de Química, SBQ, São Paulo, Brasil
- 2005 - 2005 **Operação no Módulo ECD-14B do Sistema de CG.**
Scientific Instruments Co., SINC DO BRASIL, Brasil
- 2006 - 2006 **Validação de métodos analíticos.**
Sociedade Brasileira de Química, SBQ, São Paulo, Brasil
- 2006 - 2006 Workshop: **Análise Química de especiação.**
Sociedade Brasileira de Química, SBQ, São Paulo, Brasil
- 2007 - 2007 Extensão universitária em **Cromatografia Bidimensional Abrangente.**
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, UFRGS, Porto Alegre, Brasil

LINHAS DE PESQUISA

- 1 Análise de metais traço
- 2 Análise de THM
- 3 Análise de traço e Química Ambiental
- 4 Comparação de metodologias
- 5 Desenvolvimento de novas fases extratoras
- 6 Instrumentação Analítica
- 7 Microextração em fase sólida
- 8 Separação

IDIOMAS

- Compreende:** Inglês (Razoavelmente), Italiano (Bem)
- Fala:** Inglês (Pouco), Italiano (Bem)
- Lê:** Inglês (Razoavelmente), Italiano (Bem)
- Escreve:** Inglês (Razoavelmente), Italiano (Bem)

- Aprovada no exame de “**PROFICIÊNCIA LATO SENSU**” do Instituto Italiano de Cultura no dia 14 de junho de 2007 com êxito de 7,04/10.

- Aprovada na proficiência em inglês no dia 01 de setembro de 2003 na Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC.
- Aprovada na proficiência em espanhol no dia 03 de setembro de 2005 na Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC.

PRÊMIOS E TÍTULOS

2003 Certificado de Desempenho Acadêmico, Universidade Federal de Santa Catarina

PRODUÇÃO CIENTÍFICA, TECNOLÓGICA E ARTÍSTICA/CULTURAL

Artigos completos publicados em periódicos

1. BUDZIAK, D., MARTENDAL, E., CARASEK, E.
Application of an NiTi alloy coated with ZrO₂ solid-phase microextraction fiber for determination of haloanisoles in red wine samples. *Mikrochimica Acta*. v. 164, p.197-202, 2009.
2. BUDZIAK, D., MARTENDAL, E, CARASEK, E
Preparation and characterization of new solid-phase microextraction fibers obtained by sol-gel technology and zirconium oxide electrodeposited on NiTi alloy. *Journal of Chromatography*. v.1187, p.34 - 39, 2008.
3. BUDZIAK, D, MARTENDAL, E, CARASEK, E
New poly(ethylene glycol) solid-phase microextraction fiber employing zirconium oxide electrolytically deposited onto a NiTi alloy as substrate for sol-gel reactions. *Journal of Chromatography*. v.1198-1199, p.54 - 58, 2008.
4. SUCHARA, E, BUDZIAK, D, MARTENDAL, E, COSTA, L, CARASEK, E
A combination of statistical and analytical evaluation methods as a new optimization strategy for the quantification of pharmaceutical residues in sewage effluent. *Analytica Chimica Acta*. v.613, p.169 - 176, 2008.
5. BUDZIAK, D., MARTENDAL, E., CARASEK, E.
Application of poly(dimethylsiloxane) fiber sol-gel coated onto NiTi alloy

electrodeposited with zirconium oxide for the determination of organochlorine pesticides in herbal infusions. *Journal of Separation Science*. v. 31, p.2875-2881, 2008.

6. BUDZIAK, D., MARTENDAL, E., CARASEK, E.

Application of robust NiTiInol - zirconium oxide - poly(ethylene glycol) solid-phase microextraction fiber in the determination of haloanisoles in cork stopper samples. *Analytica Chimica Acta*. v.629, p.92 - 97, 2008.

7. BUDZIAK, D., MARTENDAL, E., CARASEK, E.

Application of fractional factorial experimental and Box-Behnken designs for optimization of single-drop microextraction of 2,4,6-trichloroanisole and 2,4,6-tribromoanisole from wine samples. *Journal of Chromatography*. v.1148, p.131 - 136, 2007.

8. BUDZIAK, D., MARTENDAL, E., CARASEK, E.

Application of NiTi alloy coated with ZrO₂ as a new fiber for solid-phase microextraction for determination of halophenols in water samples. *Analytica Chimica Acta*. v.598, p.254 - 260, 2007.

9. BUDZIAK, D., MARTENDAL, E., DEBASTIANI, R., CARASEK, E.

Determination of Haloanisoles in Paper Samples for Food Packaging by Solid-Phase Microextraction and Gas Chromatography. *Microchimica Acta (Online)*. v.159, p.229 - 234, 2007.

10. BUDZIAK, D., CARASEK, E.

Determination of trihalomethanes in drinking water of three different water sources of Florianópolis – Brazil using Purge & Trap and Gas Chromatography. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 18, p. 741-747, 2007.

11. BUDZIAK, D., MARTENDAL, E., CARASEK, E.

Application of fractional factorial experimental and Box-Behnken designs for optimization of single-drop microextraction of TCA and TBA from wine samples. *Journal of Chromatography A*. v. 1148, p. 131-136, 2007.

12. BUDZIAK, D., RICHARD JUNIOR, L., BELTRAME, E., CARASEK, E.

Monitoring the formation of trihalomethanes in the effluents from a shrimp hatchery. *Environmental Monitoring and Assessment*. v. 127, p. 435-444, 2007.

13. BUDZIAK, D., SILVA, Edson Luiz da, ROCHA, E.C.

Determination of trace metals in fuel alcohol by F AAS using Nb₂O₅- SiO₂ as sorbent material in a flow injection on-line preconcentration system. *Analytical Letters*. v.37, p.1909 - 1924, 2004.

14. BUDZIAK, D., SILVA, E.L., ROCHA, E.C., CAMPOS, S. D.

Aplication of Nb₂O₅- SiO₂ in Pre-Concentration and Determination of Copper and Cadmium by Flow System with Flame Atomic Absorption Spectrometry. *Microchimica Acta*. v.141, p.169 - 174, 2003.

Comunicações e Resumos Publicados em Anais de Congressos ou Periódicos (completo)

1. BUDZIAK, D., MARTENDAL, E., MALTEZ, H. F., CARASEK, E.

Desenvolvimento do suporte de NiTi recoberto eletroliticamente com ZrO₂ para aplicação em Microextração em Fase Sólida (SPME) In: Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciência dos Materiais, 2006, Foz do Iguaçu.

2. BUDZIAK, D., MARTENDAL, E., CARASEK, E.

Uso da Otimização Multivariada na Extração de BTEX e Ésteres de Ftalato por SPME In: International Symposium on Advances in Extraction Technologies, 2005, Campinas.

Comunicações e Resumos Publicados em Anais de Congressos ou Periódicos (resumo)

1. BUDZIAK, D, MARTENDAL, E., CARASEK, E.

Preparation and characterization of new solid-phase microextraction fibers obtained by sol-gel technology and zirconium oxide electrodeposited on NiTi alloy. 12º Congresso Latino-Americano de Cromatografia e Técnicas Relacionadas (COLACRO XII), 2008. Florianópolis, Brasil.

2. BUDZIAK, D, MARTENDAL, E., CARASEK, E.
Application of robust NiTi-ZrO₂-PEG fiber in the determination of haloanisoles in cork stopper samples. 12^o Congresso Latino-Americano de Cromatografia e Técnicas Relacionadas (COLACRO XII), 2008. Florianópolis, Brasil.

3. BUDZIAK, D, MARTENDAL, E., CARASEK, E.
Application of robust NiTi-ZrO₂-PEG fiber in the determination of haloanisoles in cork stopper samples. 12^o Congresso Latino-Americano de Cromatografia e Técnicas Relacionadas (COLACRO XII), 2008. Florianópolis, Brasil.

4. BUDZIAK, D, MARTENDAL, E., CARASEK, E.
Preparation and application of NiTi alloy coated with ZrO₂ as a new fiber for solid-phase microextraction. Tenth International Symposium on Advances in Extraction Techniques and Tenth International Symposium on Hypneated Techniques in Chromatography and Hyohenated Chromatigraphic Analysers, 2008, Bruges.

5. BUDZIAK, D, MARTENDAL, E., CARASEK, E.
Application of sol-gel polydimethylsiloxane coated fiber onto NiTi alloy electrodeposited with zirconium oxide for determination of organochlorine pesticides in herbal infusions. 32nd International Symposium on Capillary Chromatography and 5th GCxGC Symposium, 2008, Riva de Garda.

6. BUDZIAK, D, SGORBINI, B., CORDERO, C., LIBERTO, E., RUBIOLO, P., SANDRA, P., BICCHI, C.
Headspace Silicon Membrane Sorptive Extraction (HS-SMSE) in the analysis of the volatile fraction of matrices of vegetable origin. 32nd International Symposium on Capillary Chromatography and 5th GCxGC Symposium, 2008, Riva de Garda, Itália.

7. BUDZIAK, D, MARTENDAL, E., CARASEK, E.
New poly(ethylene glycol) solid-phase microextraction fiber employing zirconium oxide electrolytically deposited onto a NiTi alloy as substrate for sol-gel reactions. 32nd International Symposium on Capillary Chromatography and 5th GCxGC Symposium, 2008, Riva de Garda, Itália.

8. BUDZIAK, D., MARTENDAL, E., CARASEK, E.
Aplicação da liga NiTi recoberta com ZrO₂ como nova fibra de SPME para a determinação de halofenóis de água. Encontro Nacional de Química Analítica, 2007, João Pessoa - PB.
9. SILVEIRA, M., BUDZIAK, D., MARTENDAL, E., CARASEK, E.
Desenvolvimento de metodologia analítica baseada em microextração em fase sólida e otimização quimiométrica para a determinação de ésteres de ftalato. Encontro Nacional de Química Analítica, 2007, João Pessoa - PB.
10. MARTENDAL, E., BUDZIAK, D., CARASEK, E.
Desenvolvimento de um sistema aberto para o uso da SPME com recobrimento internamente refrigerado. Encontro Nacional de Química Analítica, 2007, João Pessoa - PB.
11. MARTENDAL, E., BUDZIAK, D., CARASEK, E.
Extração com microgota para determinação de tricloroanisol e tribromoanisol em amostras de vinho branco e tinto por cromatografia gasosa. Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2007, Águas de Lindóia.
12. SUCHARA, E. A., BUDZIAK, D., MARTENDAL, E., COSTA, L. L. F., CARASEK, E.
Extração simultânea de fármacos ácidos e básicos em água residual através da técnica de microextração em fase sólida. Encontro Nacional de Química Analítica, 2007, João Pessoa - PB.
13. BUDZIAK, D., MARTENDAL, E., DEBASTIANI, R., CARASEK, E.
Metodologia Analítica para a determinação de halofenóis e haloanisóis em papel Kraft por HS-SPME-GC. Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2006, Águas de Lindóia.
14. BUDZIAK, D., CARASEK, E.
Determinação de trihalometanos em águas do sistema de abastecimento público de Florianópolis-SC usando Purge&Trap e GC. Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2005, Poços de Caldas.

15. BUDZIAK, D., RICHARD JUNIOR, L., BELTRAME, E., CARASEK, E.
Monitoramento de THM em efluentes clorados de um laboratório de pós-larvas de camarões marinhos. Encontro Nacional de Química Analítica e Congresso Ibero-Americano de Química Analítica, 2005, Niterói.
16. BUDZIAK, D., SILVA, E.L., CARASEK, E.
Determinação de cobalto e zinco em álcool combustível por FAAS após pré-concentração por injeção em fluxo. XXVI Congresso Latinoamericano de Química e 27ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química., 2004, Salvador - BA.
17. BUDZIAK, D., SILVA, J.S.A., BORGES, D.L. G., CURTIUS, A.J, WELZ, B., HEITMANN, U.
Determination of lead in soil and sediment slurries: comparison between the analytical lines at 217.0 nm and 283.3 nm using line source and high-resolution continuum source graphite furnace AAS. 8th Rio Symposium on Atomic Spectrometry, 2004, Paraty.
18. BUDZIAK, D., SILVA, E.L., CAMPOS, S. D., CARASEK, E.
Desenvolvimento de metodologia para a determinação de Cu e Cd em álcool combustível usando um sistema de pré-concentração em linha. 26ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2003, Poços de Caldas.
19. BUDZIAK, D., SILVA, E.L., CARASEK, E.
Utilização de óxido de nióbio (V) ligado à superfície da sílica gel para a pré-concentração de cobre e zinco em álcool combustível. XI Encontro de Química da Região Sul, 2003, Pelotas - RS.
20. BUDZIAK, D., SILVA, E.L., CAMPOS, S. D., CARASEK, E.
Aplicação da sílica gel modificada com óxido de nióbio (V) para a pré-concentração de cobre em matrizes alcoólicas. X Encontro de Química da Região Sul, 2002, Joinville - SC.
21. BUDZIAK, D., SILVA, E.L., CAMPOS, S. D., CARASEK, E.
Deteminação de cádmio por FAAS após sua pré-concentração por injeção em fluxo off-line. X Encontro de Química da Região Sul, 2002, Joinville - SC.

22. BUDZIAK, D., SILVA, E.L., ROCHA, CARASEK, E., CAMPOS, S. D.
Determinação de cádmio por FAAS usando um passo de pré-concentração em fluxo com sílica gel modificada com óxido de nióbio. 25ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2002, Poços de Caldas - MG.
23. BUDZIAK, D., SILVA, E.L., CARASEK, E.
Determinação de cobre em álcool combustível por FAAS após a pré-concentração sobre a superfície da sílica gel. 25ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2002, Poços de Caldas.
24. BUDZIAK, D., CARASEK, E.
Emprego da sílica gel quimicamente modificada com óxido de nióbio (V) para pré-concentração em fluxo de cobre em matrizes aquosas e determinação por FAAS. XXI ENEQUI - Encontro Nacional dos Estudantes de química., 2002, Curitiba - PR.
25. BUDZIAK, D., SILVA, E.L., CAMPOS, S. D., CARASEK, E.
Utilização do óxido de nióbio (V) quimicamente modificado a superfície da sílica gel na determinação de Cd em matrizes aquosas por espectrometria de absorção atômica. XII Seminário de Iniciação Científica, 2002, Florianópolis - SC.
26. BUDZIAK, D., SILVA, E.L., CAMPOS, S. D., CARASEK, E.
Aplicação do sorvente sílica gel quimicamente modificada com óxido de nióbio (V) para a pré-concentração de cobre. IX Encontro de Química da Região Sul, 2001, Londrina - PR.
27. BUDZIAK, D., SILVA, E.L., CARASEK, E., CAMPOS, S. D.
Pré-concentração de cobre em águas usando óxido de nióbio (V) quimicamente ligado a superfície da sílica e sua determinação por espectrometria de absorção atômica em chama. XI Encontro Nacional de Química Analítica, 2001, Campinas
28. BUDZIAK, D., SILVA, E.L., CAMPOS, S. D., CARASEK, E.
Utilização do óxido de nióbio quimicamente ligado à superfície da sílica gel na determinação de Cu^{2+} em amostras aquosas por espectrometria de absorção atômica. XI Seminário de Iniciação Científica, 2001, Florianópolis.

Demais produções bibliográficas

1. BUDZIAK, D.
DESENVOLVIMENTO DE NOVAS FASES EXTRATORAS PARA TÉCNICAS MODERNAS DE PREPARAÇÃO DE AMOSTRAS E SUA APLICAÇÃO EM AMOSTRAS AMBIENTAIS. Exame de Qualificação de Doutorado. 2006.
2. BUDZIAK, D.
DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO PARA A DETERMINAÇÃO DE TRIHALOMETANOS EM ÁGUAS DE FLORIANÓPOLIS – SC USANDO PURGE & TRAP E CROMATOGRAFIA GASOSA. Dissertação de Mestrado. 2005. Home page: <http://www.tede.ufsc.br/teses/PQMC0326.pdf>
3. BUDZIAK, D.
UTILIZAÇÃO DO ÓXIDO DE NIÓBIO (V) QUIMICAMENTE LIGADO À SUPERFÍCIE DA SÍLICA GEL NA DETERMINAÇÃO DE Cu E Cd EM MATRIZES AQUOSAS POR ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA. Monografia Final de Estágio. 2003.

EVENTOS**Participação em eventos**

1. 12º Congresso Latino-Americano de Cromatografia e Técnicas Relacionadas (COLACRO XII), 2008.
2. Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciência dos Materiais, 2006.
3. Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2006.
4. Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2005.
5. Encontro Nacional de Química Analítica e Congresso Ibero-Americano de Química Analítica, 2005.
6. International Symposium on Advances in Extraction Technologies, 2005.
7. 26ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2003.
8. XI Encontro de Química da Região Sul, 2003.
9. X Encontro de Química da Região sul, 2002.
10. 25ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2002.
11. IX Encontro de Química da Região Sul, 2001.

Participação em banca de trabalhos de conclusão

Graduação

1. BUDZIAK, D., PROBST, L. F., BASCUÑAN; V. L. F.

Participação em banca de Maikon Luiz Pedroso. *Determinação de níquel e cobalto em suspensões de lodo de esgoto por espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua e atomização em forno de grafite.* 2006 (Química Bacharelado) Universidade Federal de Santa Catarina.

INDICADORES DE PRODUÇÃO

Produção bibliográfica

Artigos completos publicado em periódico.....	14
Comunicações em anais de congressos e periódicos.....	30
Demais produções bibliográficas.....	3

Eventos

Participações em eventos (congresso).....	7
Participações em eventos (simpósio).....	1
Participações em eventos (encontro).....	3
Participação em banca de trabalhos de conclusão (graduação).....	1