

Kalya Cravo Di Pietro Roux

**DESENVOLVIMENTO DE FIBRAS DE MICROEXTRAÇÃO EM
FASE SÓLIDA COM SUPORTE DE NÍQUEL-TITÂNIO
ELETRODEPOSITADO COM POLIPIRROL E SUA
APLICAÇÃO NA DETERMINAÇÃO DE HALOANISÓIS EM
ÁGUA E VINHO POR CROMATOGRÁFIA A GÁS**

FLORIANÓPOLIS, SC – BRASIL
Fevereiro 2010

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

**DESENVOLVIMENTO DE FIBRAS DE MICROEXTRAÇÃO EM
FASE SÓLIDA COM SUPORTE DE NÍQUEL-TITÂNIO
ELETRODEPOSITADO COM POLIPIRROL E SUA
APLICAÇÃO NA DETERMINAÇÃO DE HALOANISÓIS EM
ÁGUA E VINHO POR CROMATOGRÁFIA A GÁS**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Química,
Departamento de Química,
Universidade Federal de Santa Catarina,
como requisito para a obtenção do grau de Mestre em Química.

Aluna: Kalya Cravo Di Pietro Roux
Orientador: Prof. Dr. Eduardo Carasek da Rocha
Co-orientador: Prof. Dr. Luiz Augusto dos Santos Madureira

Florianópolis, fevereiro de 2010

Kalya Cravo Di Pietro Roux

**DESENVOLVIMENTO DE FIBRAS DE MICROEXTRAÇÃO EM
FASE SÓLIDA COM SUPORTE DE NÍQUEL-TITÂNIO
ELETRRODEPOSITADO COM POLIPIRROL E SUA
APLICAÇÃO NA DETERMINAÇÃO DE HALOANISÓIS EM
ÁGUA E VINHO POR CROMATOGRÁFIA A GÁS**

Esta dissertação foi julgada e aprovada para obtenção do título de
Mestre em Química no **Programa de Pós-Graduação em
Química** da Universidade Federal De Santa Catarina

Florianópolis, 12 de fevereiro de 2010

Prof. Dr. Ademir Neves
Coordenador do Programa

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Eduardo Carasek da Rocha
Orientador

Prof. Dr. Luiz A.S. Madureira
Co-orientador

Prof^a. Dra. Alessandra F. da Silva

Prof^a. Dra. Marilda Fernandes

Prof. Dr. Daniel L. Gallindo Borges

AGRADECIMENTOS

- ✓ Agradeço acima de tudo a Deus, que dispensa qualquer comentário.
- ✓ Aos meus pais, Sônia e Yves, que confiam em meus sonhos e me ensinaram a acreditar que é possível realizá-los, além de mostrarem que trabalho, perseverança e honestidade são fundamentais. E por todo amor compartilhado comigo e com meu irmão, Yannick.
- ✓ A minha avó Suely por suas palavras calmas e confiantes.
- ✓ A minha querida família por contribuírem na formação pessoal, em especial à tia Angela pelo carinho incondicional.
- ✓ Ao Nelson pelo incentivo, pela paciência e compreensão.
- ✓ Ao prof. Carasek pela orientação e amizade durante todo tempo que participei do grupo “lab 209”.
- ✓ Aos professores da banca examinadora Madureira, Daniel, Alessandra e Marilda.
- ✓ Aos amigos de laboratório, Cristine, Giuliana, Gizelle, Jeferson, Joyce, Renata, Silvane entre outros que passaram pelo nosso grupo, em especial ao Edmar e a Dilma pela amizade e colaboração indispensável em todas as horas.
- ✓ Ao aluno de doutorado Éverton Fabian Jasinski pela colaboração na realização deste trabalho.
- ✓ Aos amigos e amigas pelas horas de descontração e desconcentração.
- ✓ Aos professores do Departamento de Química da Universidade Federal de Santa Catarina, que são responsáveis por grande parte da minha formação acadêmica.
- ✓ Por fim, agradeço ao CNPq pelo suporte financeiro.

Bom mesmo é ir a luta com determinação,
abraçar a vida com paixão,
Perder com classe e vencer com ousadia, pois
o triunfo pertence a quem se atreve...

(Charles Chaplin)

SUMÁRIO

RESUMO.....	i
ABSTRACT.....	ii
LISTA DE FIGURAS.....	iii
LISTA DE TABELAS.....	v
SIMBOLOGIA E ABREVIACÕES.....	vi
1.INTRODUÇÃO.....	1
1.1.Microextração em fase sólida.....	2
1.2.Procedimento e dispositivo de extração em SPME.....	3
1.3.Fundamentos teóricos da SPME.....	5
1.4.Condições que afetam a eficiência de extração em SPME...7	
1.5.Recobrimentos com polipirrol.....	10
1.6.Haloanísóis.....	13
2.OBJETIVOS.....	16
2.1.Objetivo Geral.....	16
2.2.Objetivos específicos.....	16
3.METODOLOGIA.....	17
3.1.Instrumentação.....	17
3.2.Reagentes químicos.....	18
3.3.Fabricação da fibra eletrodepositada.....	18
3.4.Otimização das variáveis de eletrodeposição.....	18
3.5.Otimização das variáveis de extração dos haloanísóis em água e vinho.....	19
3.6.Otimizações quimiométricas.....	20
4.RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	22
4.1.Confecção das fibras para SPME.....	22
4.1.1.Otimização das variáveis da eletrodeposição....	22
4.1.2.Otimização do potencial e quantidade de carga de eletrodeposição de polipirrol-DBS sobre fios de NiTi.....	24
4.2.Aplicação da fibra NiTi-PPy na determinação de haloanísóis.....	28
4.2.1.Otimização das condições de extração dos haloanísóis em água.....	28
4.2.2.Comparação da fibra proposta com fibras comerciais e parâmetros analíticos de mérito.....	31
4.2.3.Determinação de haloanísóis em água.....	33

4.2.4.Determinação de haloanisóis em vinho.....	34
5.CONCLUSÕES.....	37
6.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	38
7.APÊNDICES.....	44

RESUMO

Neste estudo uma liga de NiTi foi utilizada como suporte da fase extratora da técnica de microextração em fase sólida (SPME) como substituto da tradicional e frágil sílica fundida, devido as suas notáveis características como memória de forma e superelasticidade. A liga de NiTi foi utilizada como suporte para eletrodeposição de polipirrol, que agiu como fase extratora. As condições de fabricação da fibra, tais como: tipo de dopante, potencial de eletrodeposição e quantidade de carga, foram otimizadas. A morfologia das diferentes fibras confeccionadas foi avaliada por microscopia eletrônica de varredura, demonstrando que as variáveis avaliadas influenciam na rugosidade, organização das partículas de polipirrol sobre o suporte e na espessura do filme formado. Uma metodologia para determinação de haloanisóis em amostras de água e vinho foi desenvolvida, sendo a separação e detecção realizadas por cromatografia a gás com detector por captura de elétrons (GC-ECD) e GC acoplada ao detector de massas (GC-MS). As principais variáveis que influenciam a eficiência de extração foram otimizadas utilizando planejamento fatorial completo e matriz Doehlert. Alguns parâmetros de mérito foram obtidos com o método otimizado: coeficientes de correlação maiores que 0,996, desvio padrão relativo menores que 16%, exatidão na faixa de 77 a 125% e excelentes limites de detecção (1 a 6 ng L⁻¹). A eficiência de extração da fibra proposta foi comparada com fibras comercialmente disponíveis em termos de limite de detecção e precisão, sendo obtidos excelentes resultados. Propôs-se também a utilização dos halofenóis em suas formas acetiladas como padrões internos para os respectivos haloanisóis, com o objetivo de se sobrepor a efeitos de matriz e facilitar a calibração do método para determinação desses compostos em vinho pela construção da curva de calibração em água. Os efeitos de matriz foram satisfatoriamente corrigidos pelo uso dos padrões internos. A fibra de NiTi eletrodepositado com polipirrol mostrou-se uma alternativa atraente ao uso de fibras comercialmente disponíveis, devido a sua maior robustez e facilidade de preparo.

Palavras-chave: NiTi; polipirrol; haloanisóis; SPME; GC.

ABSTRACT

In this work, a NiTi alloy was used as support for application in SPME as a substitute of the traditional and fragile fused silica core, due to its remarkable features such as shape memory and superelasticity. NiTi wire was used as substrate for electrodeposition of polypyrrole, which was the extraction phase in this case. Fabrication conditions were optimized, such as: type of counter ion, electrodeposition potential and charge quantity. Morphology of the different fabricated fibers was evaluated by scanning electron microscopy, demonstrating that the investigated variables affect rugosity, organization of polypyrrole particles on the NiTi substrate and film thickness. A method for determination of haloanisoles in water and wine samples was developed, being separation and detection performed by gas chromatography with electron capture detector and mass spectrometric detector. The main variables influencing extraction efficiency were optimized using full factorial design and Doehlert matrix. Analytical parameters of merit were obtained with the optimized method: correlation coefficient higher than 0.996, relative standard deviation lower than 16%, accuracy in the range of 77 to 125% and excellent detection limits in the range of 1 to 6 ng L⁻¹. The efficiency of the proposed fiber was compared with commercially available SPME fibers with excellent results. The use of halophenols in their acetylated form as internal standards for the haloanisoles was proposed, aiming at overcoming matrix effects and facilitating method calibration by using aqueous standards. Matrix effects were satisfactorily overcome by using the internal standards. NiTi electrodeposited with polypyrrole has shown to be an attractive alternative to the use of commercially available SPME fibers, due to its higher robustness along with easy and inexpensive preparation.

Key words: NiTi; polypyrrole; haloanisoles; SPME; GC.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fibra de SPME nas posições retraída na agulha e exposta. No detalhe são mostradas as dimensões típicas da seção com um recobrimento de 100 μm de espessura.	3
Figura 2. Representação de um aplicador (<i>holder</i>) para SPME com a fibra conectada.	4
Figura 3. Representação do modo de extração (A) direto na amostra líquida; e (B) a partir do <i>headspace</i>	9
Figura 4. Representação da estrutura (A) do monômero de pirrol; (B) do polímero polipirrol em sua forma neutra.	12
Figura 5. Formação do tricloroanisol a partir de fenol.	14
Figura 6. Desempenho das fibras confeccionadas com PPy dopado com cloreto e DBS para extração dos alcoóis: 1-butanol e 1-hexanol.	22
Figura 7. Representação: (A) de PPy polimerizado com dopante Cl^- ; (B) da estrutura do dodecilbenzenosulfonato de sódio.	23
Figura 8. Micrografias eletrônicas comparativas das fibras de PPy confeccionadas com dopante (A) cloreto e (B) DBS com as mesmas condições de eletrodeposição (potencial 1,3 V e quantidade de carga 0,08 C).	24
Figura 9. Gráfico de Pareto gerado para otimização de polimerização de PPy no suporte NiTi a partir da soma das áreas de pico normalizadas dos 20 compostos majoritários do planejamento fatorial de potencial de eletrodeposição e quantidade de carga.	25
Figura 10. Sequência de ampliações das micrografias eletrônicas para PPy-DBS eletrodepositado em potencial (A) 1,2 V, (B) 1,5 V e (C) 1,8 V, e mesma quantidade de carga, 0,40 C.	27

Figura 11. Microanálise por EDS da fibra de NiTi recoberta com PPy-DBS.....	27
Figura 12. Gráfico de Pareto obtido pelo planejamento fatorial completo na otimização das variáveis de extração de (A) TCA; (B) TBA; (C) PCA e (D) média geométrica das áreas de pico dos três haloanisóis em água.	29
Figura 13. Superfície de resposta para otimização da força iônica do meio e temperatura de extração dos haloanisóis em água.....	31

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Recobrimentos para SPME disponíveis comercialmente e suas aplicações.	8
Tabela 2. Experimentos requeridos em um planejamento fatorial completo em dois níveis para três variáveis.	20
Tabela 3. Ensaio requeridos em um planejamento Doehlert para duas variáveis.	21
Tabela 4. Experimentos do planejamento fatorial completo em dois níveis para otimização do potencial e quantidade de carga de eletrodeposição de polipirrol em fios de NiTi.	25
Tabela 5. Experimentos realizados no planejamento fatorial completo em dois níveis para otimização das variáveis de extração dos haloanisóis em água.	28
Tabela 6. Experimentos realizados na matriz Doehlert para otimização da força iônica da amostra e temperatura de extração dos haloanisóis em água, com tempo de extração de 25 min.	30
Tabela 7. Comparação dos parâmetros analíticos de mérito para extração de haloanisóis em água utilizando as fibras PPy e as comerciais PA, PDMS/DVB, PDMS 100 µm.	32
Tabela 8. Concentrações em ng L ⁻¹ de haloanisóis nas amostras de água analisadas com a fibra de NiTi-PPy.	33
Tabela 9. Concentração em ng L ⁻¹ de haloanisóis em amostras de vinho analisadas com a fibra de NiTi recoberta com PPy-DBS.	34
Tabela 10. Comparação das inclinações das curvas em água e em vinho com e sem a utilização dos padrões internos.	35

SIMBOLOGIA E ABREVIACÕES

aPCP	Acetil-pentaclorofenol
aTCP	Acetil-2,4,6-triclorofenol
c_0	Concentração inicial do analito na amostra
c_a	Concentração do analito na amostra
CE	Eletroforese capilar (<i>Capillary electrophoresis</i>)
c_f	Concentração da analito na fase estacionária
DBSNa	Dodecilbenzenossulfonato de sódio
DVB	Divinilbenzeno
EDS	Espectroscopia por dispersão de energia (<i>Energy dispersive X-Ray spectroscopy</i>).
GC	Cromatografia/cromatógrafo a gás (<i>Gas chromatography</i>)
GC-ECD	Cromatógrafo a gás com detector por captura de elétrons (<i>GC-electron capture detector</i>)
GC-MS	cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massas (<i>Gas chromatography-mass spectroscopy</i>)
HPLC	Cromatografia líquida de alta eficiência (<i>High performance liquid chromatography</i>)
HS-SPME	SPME a partir do <i>headspace</i>
K_{fa}	Coefficiente de partição dos analitos entre a matriz e a fase estacionária em extrações diretas
K_{fg}	Coefficiente de partição dos analitos entre a fase estacionária e a fase gasosa (c_f/c_g)
K_{ga}	Coefficiente de partição dos analitos nas fases gasosa e aquosa (c_g/c_a)
LD	Limite de detecção
LQ	Limite de quantificação
MIP	Impressão molecular de polímero (<i>Molecular imprinted polymer</i>)
n_f	Quantidade de analito extraída pela fase estacionária
NiTi	Liga equiatômica de níquel e titânio
PA	Poliacrilato
PCA	Pentacloroanisol
PDMS	Polidimetilsiloxano
PI	Padrão interno
PPy	Polipirrol
PSS	Poli(estirenosulfonato)

Q	Quantidade de carga eletrodepositada
R	Coefficiente de correlação
RSD	Desvio Padrão relativo (<i>relative standard deviation</i>)
SEM	Microscopia eletrônica de varredura (<i>Scanning electron microscopy</i>)
SPME	Microextração em fase sólida (<i>Solid-phase microextraction</i>)
TBA	2,4,6-tribromoanisol
TCA	2,4,6-tricloroanisol
TS	<i>p</i> -toluenosulfonato
V _a	Volume da fase aquosa
V _f	Volume da fase estacionária

1. INTRODUÇÃO

A atual necessidade de determinação de analitos em concentrações de ultra-traços vem exigindo o desenvolvimento de métodos analíticos mais eficientes, e que apresentem características tais como alta velocidade analítica, não uso de solventes e poucas etapas de manipulação da amostra [1]. A microextração em fase sólida (SPME) apresenta-se como uma alternativa promissora para procedimentos de preparação de amostras especialmente para cromatografia a gás (GC), oferecendo vantagens como alta eficiência, boa precisão, baixo limite de detecção e facilidade para automação [2,3]. Mesmo sendo a SPME uma tecnologia recentemente introduzida à ciência de separações, esta técnica está em constante desenvolvimento. Entre os recentes avanços da SPME está o desenvolvimento de recobrimentos para confecção de fibras com novas fases extratoras sobre materiais “inquebráveis” que apresentam um ciclo de vida útil superior as comercialmente disponíveis.

Tipicamente, a SPME usa fibras de sílica fundida com recobrimento polimérico para extrair compostos alvos de diferentes matrizes, sendo a seleção do tipo de recobrimento da fibra a parte chave do sistema para uma análise eficiente. Primeiramente, somente os recobrimentos de polidimetilsiloxano (PDMS) e poliacrilato (PA) eram comercializados. Posteriormente, recobrimentos com fases mistas como PDMS-divinilbenzeno(DVB), Carboxen-PDMS, Carbowax(CW)-DVB, também foram desenvolvidos [4]. Recentemente novos tipos de fibras, como as partículas de sílica ligadas com C8, C18 [5], alumínio anodizado [6], carvão ativado [7], fibra recoberta com impressão molecular do polímero (MIP) [8], cloreto de cobre(I) [9], entre outras tem sido preparadas. A utilização de polímeros mais polares, como o polipirrol, para fabricação das fibras vem sendo estudada, pois além deste ter caráter polar, possui a vantagem de ser um composto biocompatível, possibilitando a análise direta *in vivo* [10, 11]. Além disso, as fibras de SPME disponíveis comercialmente têm estabilidade térmica, mecânica e química pobres porque eles são preparados por deposição física sobre a fibra de sílica fundida. Uma alternativa muito utilizada é a eletrodeposição de polímeros condutores, como a polianilina [12,13] e o polipirrol [14,15] sobre substratos metálicos.

Embora sílica fundida seja usada amplamente e com sucesso como suporte para fibras de SPME ela tem a desvantagem de ser frágil.

O uso de fios metálicos que possuem boa estabilidade mecânica torna a SPME uma técnica de preparação de amostra mais robusta para análise de rotina [16]. Vários trabalhos vêm sendo desenvolvidos usando diferentes materiais como uma opção mais resistente e maleável em substituição ao suporte tradicional de sílica fundida, tais como: fios de platina [15, 17], fios de alumínio anodizado [6], fios de ouro [7, 13], fibras de carbono ativado [18], aço inoxidável [19], fios de cobre [9] e fios de liga de níquel-titânio (NiTi) [20, 21]. Este último material, a liga aproximadamente equiatômica de NiTi, conhecida comercialmente como Nitinol[®], é capaz de mostrar o que é comumente chamado de superelasticidade e memória de forma. 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 à corrosão são características altamente desejadas e aperfeiçoam a técnica de SPME. Devido, principalmente, à última propriedade mecânica abordada, e por ser biocompatível, ou seja, em princípio não oferece danos ao organismo, esta liga está sendo amplamente usada na confecção de próteses endovasculares para cirurgias minimamente invasivas no tratamento de aneurismas [21].

1.1. Microextração em fase sólida

A microextração em fase sólida vem sendo amplamente aceita e aplicada em química analítica pelo fato de ser uma técnica livre de solventes, relativamente rápida, seletiva, versátil e que combina extração e pré-concentração em uma única etapa. É uma técnica relativamente recente de extração com sorventes que foi desenvolvida por Arthur e Pawliszyn [1] como uma alternativa às técnicas convencionais de extração.

Embora inicialmente desenvolvida para análise de compostos voláteis e semi-voláteis em amostras ambientais, como micropoluentes orgânicos em água, a SPME tem sido aplicada a várias áreas. Atualmente é possível encontrar publicações que utilizam esta metodologia para determinação de compostos orgânicos voláteis, semi-voláteis e poluentes inorgânicos não-voláteis em diferentes campos de aplicação, como: meio ambiente, alimentos, produtos naturais, farmacêuticos, biológicos, toxicologia, entre outros [22-24].

A SPME pode ser acoplada a diferentes técnicas para a obtenção de dados analíticos, como: cromatografia gasosa [25], cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massas (GC-MS) [26], cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) [27] e eletroforese capilar (CE) [28].

1.2. Procedimento e dispositivo de extração em SPME

O dispositivo básico de SPME consiste de um suporte, geralmente de sílica fundida com 100 μm de diâmetro e 1 cm de comprimento, sendo que este é recoberto com um fino filme polimérico ou sólido adsorvente (fase extratora). Este suporte é ligado a um tubo de aço inoxidável (tubo hipodérmico) que é finalizado com uma rosca, que por sua vez é adaptado no interior de uma agulha com diâmetro interno ligeiramente maior que o tubo. A fibra de SPME com ampliação da fase extratora está representada na Figura 1.

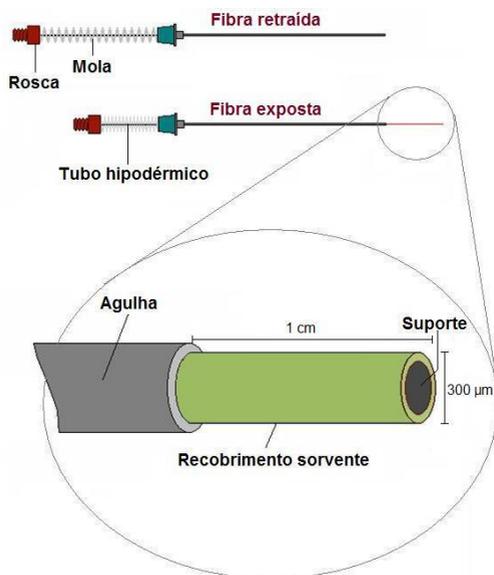


Figura 1. Fibra de SPME nas posições retraída na agulha e exposta. No detalhe são mostradas as dimensões típicas da seção com um recobrimento de 100 μm de espessura.

Já a Figura 2 ilustra o dispositivo completo de SPME, no qual a fibra é conectada (através da rosca) ao *holder* ou aplicador que permite que a fase extratora seja exposta ao meio ou recolhida para dentro da agulha de aço inoxidável dependendo da etapa da análise.

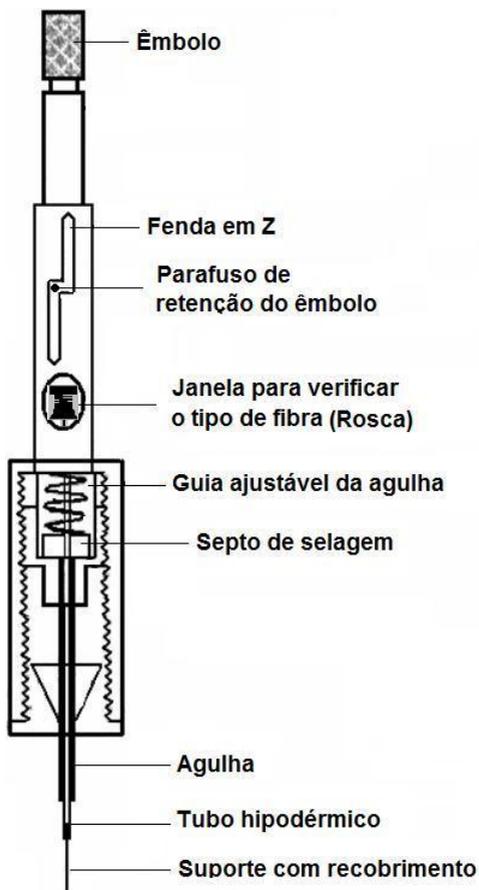


Figura 2. Representação de um aplicador (*holder*) para SPME com a fibra conectada.

Na etapa de extração, para que se exponha a fibra à amostra (na forma direta ou *headspace*), perfura-se o septo de silicone (do frasco

contendo a amostra) com a agulha (fibra recolhida). Em seguida, pressiona-se o êmbolo de modo a se expor a fase extratora à matriz. A fibra permanece exposta pelo tempo determinado para que ocorra a sorção dos analitos. Na etapa de dessorção, a fibra contendo os analitos concentrados é recolhida, retirada do frasco da amostra e, da mesma forma, exposta no injetor do sistema cromatográfico aquecido, onde ocorre a dessorção térmica e posterior separação e detecção dos analitos [23, 24, 29-31].

1.3. Fundamentos teóricos da SPME

A microextração em fase sólida pode ser usada para amostras aquosas, gasosas ou sólidas. Em todos os casos, há uma partição dos analitos entre a amostra matriz e a fase estacionária. Considera-se o final do processo, na maioria das vezes, o momento a partir do qual o analito alcança a concentração de equilíbrio nas fases, a partir desse instante, a quantidade de analito retido no recobrimento permanece constante com o passar do tempo. Logo após a introdução da fase extratora na amostra (diretamente na amostra aquosa ou em seu headspace), os analitos começam a migrar da matriz para o meio extrativo. O coeficiente de partição entre a matriz e a fase estacionária (K_{fa}) em extrações diretas é expresso como a concentração do analito na fase estacionária (c_f) sobre a concentração do analito na amostra (c_a):

$$K_{fa} = c_f/c_a \quad (1)$$

A quantidade de analito extraída pela fase estacionária (n_f), uma vez estabelecido o equilíbrio, será dada pela expressão:

$$n_f = K_{fa}V_f c_0 \quad (2)$$

onde V_f é o volume da fase estacionária e c_0 é a concentração inicial do analito na amostra.

A equação 2 só é válida se o volume da fase aquosa (V_a) é praticamente infinito comparado ao volume da fase estacionária (V_f); caso contrário, uma equação mais geral é aplicada:

$$n_f = K_{fa}V_fV_a c_a / (K_{fa}V_f + V_a) \quad (3)$$

Para analitos com valores altos de K_{fa} , o tempo de equilíbrio pode ser muito longo (mais de 1 h), mesmo em uma amostra agitada, o que torna a técnica de SPME bastante demorada. Isto pode ser evitado através da utilização de um tempo de amostragem menor do que o tempo de equilíbrio. Existe uma relação linear entre a quantidade do analito extraído e sua concentração inicial na amostra, antes mesmo do tempo de equilíbrio ser alcançado. Na maioria dos casos, a amostragem sob as mesmas condições (de temperatura e agitação) pode ser usada, mas sempre com o mesmo tempo de extração – mais curto que o tempo de equilíbrio. SPME é essencialmente uma técnica de equilíbrio, mas sob certas condições, uma extração quantitativa dos analitos pode ser alcançada. Este é o caso se o coeficiente de partição da substância é muito elevado e, portanto, $K_{fa}V_f \gg V_a$. Então, a Equação 3 é simplificada para:

$$n_f = V_a c_a \quad (4)$$

Microextração em fase sólida da fase gasosa significa extração a partir de amostras gasosas ou, mais frequentemente, a partir do *headspace* (HS-SPME). Neste último modo, amostras aquosas são colocadas em um frasco selado em temperatura constante até que o equilíbrio dos analitos entre a matriz aquosa e o *headspace* seja atingido. A fibra de SPME é, então, exposta à fase gasosa acima da amostra. Considerando a distribuição dos analitos entre a amostra líquida e seu *headspace*, a Equação 3 é modificada, levando em conta esse novo equilíbrio e as novas constantes de partição:

$$n_f = c_0 V_f V_a K_{fg} K_{ga} / (K_{fg} K_{ga} V_f + K_{ga} V_g + V_a) \quad (5)$$

onde K_{fg} (c_f/c_g) é o coeficiente de partição entre a fase estacionária e a fase gasosa (*headspace*) e K_{ga} (c_g/c_a) é o coeficiente de partição dos analitos nas fases gasosa e aquosa. Nesse caso, a partição do analito entre a fase gasosa (*headspace*) e a aquosa é considerada, diferentemente da Equação 3.

O tempo necessário para os analitos de uma amostra gasosa atingirem o equilíbrio entre a fase estacionária e a matriz é menor do que para extrações em amostras aquosas, porque o coeficiente de difusão para o transporte de substância de uma fase gasosa para a fibra é maior do que em fase aquosa. Assim, HS-SPME é recomendado nos casos em que os analitos são voláteis, mas é especialmente adequado

para amostras com uma grande quantidade de impurezas, que de outra forma ligam-se a fibra, reduzindo a sua capacidade de extração e vida útil. [29-32].

1.4. Condições que afetam a eficiência de extração em SPME

Alguns aspectos influenciam a eficiência de extração da fibra em SPME, tais como o tipo e espessura do recobrimento da fibra, a temperatura e o tempo de extração, a força iônica do meio, pH, grau de agitação e volume da amostra. A complexidade da matriz da amostra e uma etapa de derivatização também podem afetar a extração dos compostos de interesse [23, 24, 29-32].

- *Tipo de recobrimento da fibra*

A escolha apropriada do revestimento da fibra é um parâmetro essencial para alcançar uma boa seletividade na extração dos analitos de interesse e vai depender da natureza química dessas espécies. A eficiência de uma extração depende fortemente da polaridade e das constantes de distribuição dos analitos entre a amostra e o recobrimento da fibra utilizada, como já foi comentado anteriormente. O princípio “semelhante dissolve semelhante” pode ser empregado à seleção da fibra. A espessura do recobrimento também influencia na detectabilidade do procedimento analítico. Na Tabela 1 estão dispostos alguns recobrimentos para fibras de SPME disponíveis comercialmente e suas aplicações recomendadas.

- *Modo de extração em SPME*

Os dois modos de operação para se fazer uma extração via SPME são: o modo de extração direta, onde a fibra extratora é inserida diretamente na amostra líquida. Este modo é indicado quando os analitos de interesse são pouco voláteis; a desvantagem é a possibilidade de sorção de interferentes e de compostos de alta massa molecular que possam causar efeito de memória e/ou reduzir a vida útil da fibra. Amostras muito ácidas ou básicas também podem prejudicar a fibra quando utiliza-se o modo direto de extração.

Tabela 1. Recobrimentos para SPME disponíveis comercialmente e suas aplicações.

Sorvente	Espessura do filme, μm	Aplicações típica
PDMS	7, 30 ou 100	Apolares
PA	85	Semi-voláteis, polares
PDMS/DVB	60 ou 65	Hidrocarbonetos aromáticos e pouco voláteis, voláteis
Carbowax/DVB	65 ou 70	Polares, alcoóis
Carbowax/TR ^a	50	Surfactantes
Carbowax/PEG	60	Polares
Carboxen/PDMS	75 ou 85	Gases, compostos leves
DVB/Carboxen/PDMS	30 ou 50	Compostos leves, polares

^a templated resin.

O outro modo, conhecido como extração pelo *headspace*, consiste em expor a fibra somente ao ar confinado acima da amostra no frasco de extração. Neste modo, os analitos passam para a fase de vapor e são ali extraídos pela fibra. A extração por *headspace* é indicada para a análise de compostos de média a alta volatilidade, tendo a vantagem de poupar a fibra de exposição a possíveis interferentes e compostos prejudiciais presentes na matriz, aumentando a vida útil do recobrimento da fibra (ver Figura 3).

- *Agitação da amostra*

Quando a amostra é agitada o tempo necessário para alcançar o equilíbrio é reduzido porque diminui a camada estática de difusão dos

analitos ao redor da fibra, acelerando a transferência de massa e, conseqüentemente, tornando a extração mais rápida, tanto para imersão direta quanto para exposição ao *headspace*. Deve-se ressaltar, entretanto, que a agitação não aumenta a capacidade de extração da fibra; ela somente minimiza o tempo para que seja atingido o equilíbrio. As formas de agitação da amostra mais utilizadas são agitação ultra-sônica, agitação da fibra de SPME e agitação com barra magnética, que é a mais amplamente utilizada.

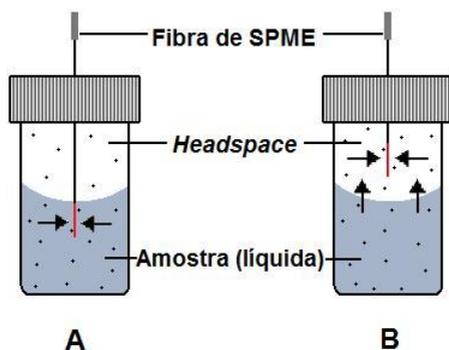


Figura 3. Representação do modo de extração (A) direto na amostra líquida; e (B) a partir do *headspace*.

- *Força iônica*

Geralmente a solubilidade de compostos orgânicos em água é minimizada pela adição de um sal à amostra, pois aumenta a força iônica do meio, forçando-os a passar à fase de vapor e/ou à fibra. Entretanto, em alguns casos envolvendo analitos altamente polares ou passíveis de sofrer dissociação iônica em meio aquoso a adição de eletrólitos pode ser desfavorável, uma vez que sua atividade na solução diminui com o aumento da força iônica, diminuindo a eficiência de extração da fibra. A diminuição da eficiência de extração com o aumento da força iônica também pode ser explicado pela diminuição da difusividade dos analitos pela camada estática de difusão devido ao aumento da viscosidade da amostra aquosa.

- *pH da amostra*

O pH da amostra pode ser ajustado para valores que aumentam a presença da forma neutra na extração de analitos ácidos ou básicos como os fenóis e aminas. A influência do pH na extração destes analitos é bastante pronunciada: amostras ácidas fazem com que analitos ácidos permaneçam em suas formas neutras, aumentando sua volatilidade e sua afinidade pelos recobrimentos poliméricos; da mesma maneira, amostras básicas promovem neutralização de analitos básicos, produzindo efeitos similares. Quando a SPME é realizada no modo direto, deve-se ter maior controle do pH, pois valores de pH extremos (menor que 2 e maior que 11) podem danificar o revestimento da fibra.

- *Temperatura de extração*

A variação da temperatura de extração tem grande efeito sobre a SPME. Com o aumento da temperatura, o coeficiente de partição do analito entre a amostra e a fase gasosa aumenta e o coeficiente de partição do mesmo para a fase extratora diminui. Em extrações pelo *headspace*, o aquecimento da amostra pode ser vantajoso, uma vez que a pressão de vapor dos analitos torna-se maior, aumentando o valor de K_{ga} (Equação 5). Entretanto, temperaturas mais altas diminuem a constante de distribuição dos analitos entre o *headspace* e o recobrimento (K_{fg} , Equação 5), favorecendo a passagem dos analitos à fase de vapor. Portanto, o aumento da temperatura de uma extração pode melhorar a sensibilidade em relação a compostos mais pesados ao mesmo tempo em que prejudica a extração de compostos mais leves. Com isso, geralmente busca-se o melhor compromisso entre o aumento da extração de compostos pesados e a perda de sensibilidade na análise de compostos mais leves. [23, 24, 29-32].

1.5. Recobrimentos com polipirrol

Para obter determinações mais seletivas de diferentes classes de compostos, o número de materiais de revestimento disponíveis tem aumentado nos últimos tempos. Assim como tem crescido o interesse em polímeros condutores, devido às suas propriedades multifuncionais e potenciais aplicações, como trocadores de íons, revestimentos

anticorrosão, sensores químicos e materiais para separação [10, 11, 14, 15]. A estrutura dos polímeros condutores é formada por longas cadeias de ligações duplas e anéis aromáticos, tornando possível a movimentação de cargas nesses materiais. Este fato em si não é responsável pelo caráter condutor, pois para que este ocorra é preciso que haja também uma variação parcial de cargas, que é obtida pela oxidação. A oxidação se dá pela introdução de ânions na cadeia polimérica. A possível integração de um surfactante em polímeros condutores é capaz de melhorar a estabilidade elétrica, termooxidativa, e hidrolítica devido à introdução do componente volumoso e hidrofóbico.

Devido à boa condutividade elétrica, estabilidade ambiental e da relativa facilidade de síntese, o polipirrol (PPy) é um dos polímeros condutores mais estudados. PPy pode ser preparado em vários solventes orgânicos e em soluções aquosas, por técnica eletroquímica ou oxidação química de monômeros de pirrol [33]. Em polimerização química oxidativa de pirrol muitos oxidantes têm sido utilizados, entre eles o mais utilizado com intuíto analítico é o perclorato férrico [34-36]. Por outro lado, quando a preparação do polímero se dá por alguma técnica eletroquímica, a coulometria com potencial controlado é a mais utilizada. Nesta técnica, utiliza-se uma célula eletroquímica com três eletrodos, sendo um eletrodo de trabalho (sobre o qual a reação de eletropolimerização ocorrerá), um contra-eletrodo (geralmente de platina) e um eletrodo de referência (calomelano saturado) [15, 33, 37, 38]. No caso específico da eletrodeposição de PPy, a reação que ocorre na superfície do eletrodo de trabalho pode ser representada através da seguinte equação química:



onde A^- é o ânion do eletrólito suporte. A eletrodeposição pode ser realizada em pH neutro.

O monômero de pirrol e sua forma polimerizada neutra estão representados na Figura 4. Polipirrol e seus derivados dopados com contra-íons pequenos, por exemplo Cl^- , ClO_4^- , NO_3^- normalmente exibem comportamento de trocador aniônico devido à alta mobilidade destes íons na matriz do polímero. Propriedades de troca de cátions podem ser alcançadas através da incorporação de contra-íons polianiônicos grandes, como o poli(estirenosulfonato) (PSS), por causa da sua imobilidade no polímero matriz [9]. Quando se incorpora contra-

íons orgânicos de tamanho intermediário na matriz de PPy, tais como dodecilbenzenossulfonato de sódio (DBSNa), p-toluenosulfonato (TS), troca catiônica e aniônica tem sido observadas [15,33,37,38].

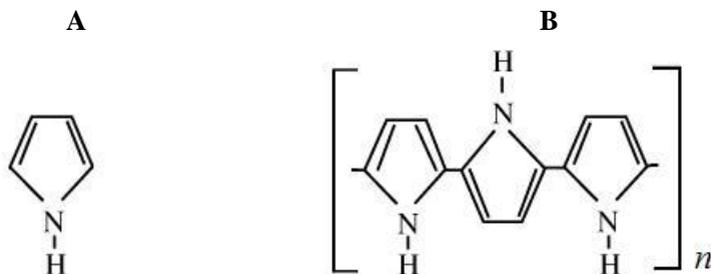


Figura 4. Representação da estrutura (A) do monômero de pirrol; (B) do polímero polipirrol em sua forma neutra.

Estudos foram realizados com polipirrol e métodos de separação, entre eles Wu e colaboradores determinaram pesticidas polares em água e vinho através da confecção de filmes de PPy e poli-N-metilpirrol (PMPY) quimicamente polimerizados em capilares de sílica fundida para SPME em tubo e detecção por cromatografia líquida de alta eficiência com interface de ionização por *eletrospray* e espectrometria de massas (HPLC-ESI-MS) [34]; Mehdinia *et al* determinaram dois derivados de pirrolidona em drogas utilizando a técnica HS-SPME e cromatografia a gás com detector nitrogênio-fósforo, a fibra fabricada no laboratório foi filme de PPy-ClO₄ eletrodepositado em fios de platina[39]; Mollahosseini e Noroozian fabricaram fibras de PPy-polifosfato eletrodepositado em fios de aço inoxidável e aplicaram na determinação de pesticidas organoclorados em água por SPME e GC-ECD [38]; Alizadeh e colaboradores aplicaram filmes eletrodepositados de PPy-dodecilsulfato em fios de platina como fibra de HS-SPME para determinação de metanfetaminas em plasma (soro) de sangue humano por espectrometria de mobilidade iônica (IMS) [40]; Wu e Pawliszyn testaram as propriedades dos filmes de PPy eletrodepositados em fios de platina com diferentes contra-íons (ClO₄⁻, TS, DS e PSS [37]; Zhang *et al* descrevem um detector

eletroquímico com polipirrol superoxidado e modificado quimicamente utilizado para análises *in vivo* (cérebro de ratos) para monitoramento de neurotransmissores monoaminas usando amostragem por microdiálise com cromatografia líquida com detector eletroquímico [11]; Wu e colaboradores realizaram a especiação de compostos organoarsênicos por SPME em tubo em sistema em linha com capilares de sílica fundida revestidos internamente com PPy (polimerização química) e detecção por LC-ESI-MS [35]; Mohammadi *et al* prepararam eletroquimicamente um filme de polipirrol dopado com dodecilsulfato em fio de platina e aplicaram na determinação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) através de HS-SPME por GC-FID e GC-MS [15].

1.6. Haloanisóis

A presença de haloanisóis, especialmente o 2,4,6-tricloroanisol (TCA), na água da torneira e no vinho é motivo de preocupação para os consumidores e produtores por causa de seu cheiro e sabor desagradáveis. As principais fontes destes *off-flavours* em ambas as matrizes são desinfetantes a base de cloro adicionados ao sistemas de abastecimento de água e de soluções utilizadas para branqueamento de rolhas de cortiça durante sua produção, lavagem de barris de carvalho, etc.

Cloroanisóis geralmente surgem de O-metilação de clorofenóis, como um método de desintoxicação por diferentes microorganismos, especialmente fungos, em condições específicas de temperatura e umidade. Clorofenóis estão freqüentemente presentes por causa de embalagens, fungicidas, herbicidas e preservativos de madeira que são utilizados na agricultura e indústria. A formação do tricloroanisol (Figura 5) pode ocorrer se moléculas de fenol forem expostas a combinação de qualquer processo de cloração e uma conversão biológica causada por um processo fúngico natural.

Uma vez formado, o TCA é quimicamente estável e facilmente absorvido por diversos materiais naturais e sintéticos. Encontra-se na natureza e na indústria, tendo sido detectado em vários alimentos e bebidas, entre eles embalagens de café e cacau, vinho e cerveja, até em água potável municipal e engarrafada; materiais de embalagem, tais como madeira, papel, cartão e plásticos.

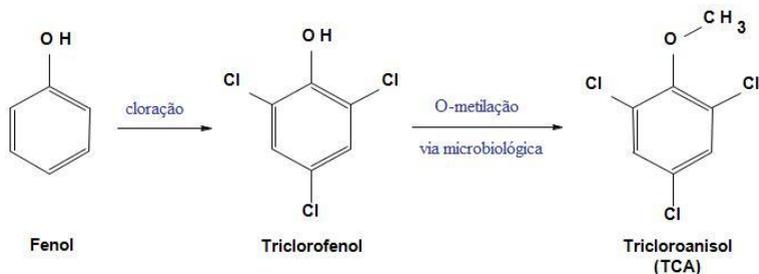


Figura 5. Formação do tricloroanisol a partir de fenol.

Os haloanisóis não apresentam efeitos tóxicos nos níveis detectados naturalmente, porém são percebidos pelos sentidos humanos em concentrações muito baixas. Limites sensoriais de haloanisóis dependem de vários fatores, tais como seu grau de halogenação, o tipo de matriz e da habilidade de percepção de cada pessoa. É sabido que os consumidores rejeitam vinhos contendo concentrações de 2,4,6-tricloroanisol acima de 10 ng L^{-1} , e um limite mais baixo foi relatado para o mesmo composto na água da torneira. Felizmente, os limites de percepção para os outros haloanisóis são significativamente superiores [41-44].

Haloanisóis foram investigados em outras pesquisas, entre estas Montes e colaboradores determinaram 2,4-dicloroanisol, TCA, 2,4,6-tribromoanisol (TBA), 2,3,4,6 tetracloroanisol (TeCA) e pentacloroanisol (PCA) em amostras de água e vinho, utilizaram 4-iodoanisol (IA) como padrão interno, uma peça de PDMS para concentrar os analitos e um pequeno volume de solvente orgânico para dessorvê-los foram usados, obtiveram limites de quantificação entre $0,5$ e 20 ng L^{-1} , dependendo do composto e da técnica de detecção (GC-ECD ou GC-MS/MS). [41]. Maggi *et al* compararam SPME no modo direto, no headspace e extração sortiva em barra (SBSE) para análise de halofenóis e haloanisóis em diferentes matrizes líquidas, separação/detecção por GC-MS/MS, os LQs para haloanisóis ficaram entre $0,08$ e 796 ng L^{-1} , dependendo da técnica usada para concentrar os analitos [45]. Mardones *et al* fizeram a extração de 2,4,6-tribromofenol (TBP), pentaclorofenol (PCP) e PCA em leite de vaca integral usando HS-SPME e comparando as fibras de PA e PDMS. A PA foi estudada para extrair PCA, PCP e TBP, enquanto PDMS para PCA e derivados acetilados de PCP e TBP, separação/detecção por GC-MS, os limites de quantificação ficaram entre $0,4$ e $2,5 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ [42]. Riu e colaboradores

aplicaram SPME e GC-ECD para determinação simultânea de 2,4-dicloroanisol, 2,6-dicloroanisol, TCA, TeCA e PCA em rolhas de cortiça, a fibra escolhida dentre as testadas foi DVB/CAR/PDMS, obtiveram LQs na faixa de 0,6 a 8,6 ng g⁻¹ [43]. Pizarro *et al* utilizaram microextração em fase sólida múltipla e GC-MS/MS para a determinação simultânea de TCA, TeCA, PCA, TBA, 4-etilfenol, 4-etilguaiaicol, 4-vinilfenol e 4-vinilguaiaicol em vinhos, com fibra de DVB/CAR/PDMS, os limites de quantificação obtidos foram na faixa de 0,03 e 0,48 µg L⁻¹ [46]. Franc *et al* utilizaram o método multi-resíduos (MRM) para a detecção e quantificação de oito compostos, entre eles haloanisóis, responsáveis por *off-flavours* no vinho usando SBSE, seguido de dessorção térmica e separação/detecção em GC-MS, limites de quantificação entre 0,4 e 11 ng L⁻¹ foram apurados [47]. Campillo *et al* utilizaram HS-SPME para determinação de 12 haloanisóis em amostras de vinho e aguardente através de cromatografia gasosa com detector de emissão atômica (GC-AED), DVB/CAR/PDMS foi a fibra escolhida, vários dos haloanisóis estudados foram detectados em concentrações que variam de 10,3 ng L⁻¹ a 1,14 ng mL⁻¹ [48].

No presente estudo fibras robustas de NiTi revestidas eletroquimicamente com polipirrol foram confeccionadas para microextração em fase sólida e as mesmas foram utilizadas em metodologia analítica desenvolvida para determinação de haloanisóis em água e vinho por cromatografia a gás.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Aperfeiçoar a tecnologia de microextração em fase sólida através da confecção de fibras robustas de NiTi revestidas com polipirrol e desenvolver metodologia analítica com a fibra proposta para determinação de haloanisóis em água e vinho por cromatografia a gás.

2.2. Objetivos específicos

Confeccionar fibras de SPME com suporte de NiTi e imobilização de polipirrol via eletrodeposição;

Avaliar o desempenho dos contra-íons cloreto e DBS na fabricação da fibra eletrodepositada em fios de NiTi;

Investigar as melhores condições de potencial e quantidade de carga de eletrodeposição no processo de recobrimento do suporte;

Desenvolver e aplicar metodologia analítica empregando SPME e GC para determinação de haloanisóis em amostras de água e vinho;

Utilizar halofenóis em suas formas acetiladas como padrões internos para os respectivos haloanisóis para determinação desses compostos em vinho pela construção da curva analítica em água;

Obter os principais parâmetros analíticos de mérito com o método desenvolvido e otimizado;

Comparar a fibra confeccionada em termos de limite de detecção e precisão com as fibras comerciais PA, PDMS 100 µm e PDMS/DVB.

3. METODOLOGIA

3.1. Instrumentação

Um cromatógrafo a gás Shimadzu GC-2010, equipado com injetor split/splitless e detector de massas foi utilizado nas análises cromatográficas nas etapas de otimização (tanto da fabricação da fibra como do procedimento de extração dos haloanisóis). Uma coluna capilar de sílica fundida Rtx-5MS (5% difenil) de 30 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e com a fase de recobrimento de 0,25 μm foi utilizada. O programa de temperatura da coluna foi 60 °C por 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. O gás de arraste utilizado foi o hélio, com um fluxo de 1 mL min^{-1} , os dados foram adquiridos no modo scan, modo de ionização utilizado foi o impacto eletrônico a 70 eV. A temperatura do injetor foi de 190 °C e do detector de 200 °C (fonte) e 280 °C (interface). As amostras foram injetadas no modo *splitless* e este foi aberto após 2 minutos.

Para obtenção dos parâmetros analíticos de mérito e aplicação da fibra para extração de haloanisóis, utilizou-se um cromatógrafo a gás Shimadzu GC-14B, equipado com injetor split/splitless e detector por captura de elétrons (ECD). A coluna utilizada para separação cromatográfica foi Rtx-WAX com 30 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e com a fase estacionária de 0,25 μm . Utilizou-se nitrogênio ultrapuro como gás de arraste e auxiliar em vazões de 1,0 e 35 mL min^{-1} , respectivamente. O programa de temperatura da coluna foi de 80 °C por 1 min, 15 °C min^{-1} até 180 °C (1 min) e 5 °C min^{-1} até 180 °C (5 min). Temperatura do injetor de 190 °C e detector de 280 °C. As amostras foram injetadas no modo *splitless*.

A eletropolimerização do pirrol foi realizada no Laboratório de Sistemas Nanoestruturados (LabSiN) pelo aluno de doutorado Éverton Fabian Jasinski, utilizando um potenciostato PAR modelo 363, operado por meio de um software desenvolvido no LabSiN.

A morfologia e composição das fibras, com e sem recobrimento, foram obtidas por microscopia eletrônica de varredura (SEM), usando um microscópio Philips XL-30. Análises semi-quantitativas foram realizadas usando espectroscopia por dispersão de energia (EDS).

3.2. Reagentes químicos

Cloreto de potássio (Vetec, Duque de Caxias, Brasil) e dodecilbenzenossulfato de sódio (DBSNa) (Sigma–Aldrich, Milwaukee, EUA) foram testados como dopantes para eletrodeposição do polipirrol. Padrões de 1-butanol (Vetec, Duque de Caxias, Brasil) e 1-hexanol (Sigma–Aldrich, Milwaukee, EUA) foram usados nas extrações para otimização do tipo de dopante.

Padrões de haloanisóis, 2,4,6-tricloroanisol (TCA), 2,4,6-tribromoanisol (TBA) e pentacloroanisol (PCA) (Sigma–Aldrich, Milwaukee, EUA), foram gravimetricamente preparados em metanol grau HPLC (Tedia, Fairfield, EUA) em concentração inicial de 1610 mg L⁻¹. A partir desta solução, diluições foram preparadas para fortificação das amostras. Cloreto de sódio (Merck, Darmstadt, Alemanha) foi usado para modificar a força iônica do meio.

Halofenóis em sua forma acetilada foram utilizados como padrões internos (PI), incluindo 2,4,6-triclorofenol, 2,4,6-tribromofenol e pentaclorofenol (Sigma–Aldrich, Steinheim, Alemanha). Estes foram preparados gravimetricamente em anidrido acético (Merck, Darmstadt, Alemanha) para obter a forma acetilada (derivatizada) destes compostos.

3.3. Fabricação da fibra eletrodepositada

Para polimerização do pirrol utilizou-se a técnica de coulometria com potencial constante. Numa célula eletroquímica composta por três eletrodos, um eletrodo de trabalho (fio de NiTi), um eletrodo de referência (calomelano saturado) e um contra-eletrodo (placa de platina com dimensões de 1,5 cm de largura e 3,0 cm de comprimento).

O fio de NiTi utilizado foi de 0,2 mm de diâmetro e 2 cm de comprimento, sendo que o recobrimento foi de 1 cm. O eletrodo de trabalho foi previamente lixado e lavado com acetona.

Após o recobrimento do fio de NiTi, o mesmo foi acoplado ao aparato de uma fibra comercial e ao *holder* (Supelco, Bellefonte, EUA). Antes da utilização, as fibras foram condicionadas termicamente no injetor do cromatógrafo por 30 min a 190 °C.

3.4. Otimização das variáveis de eletrodeposição

A otimização dos dopantes (DBS e cloreto), foi feita pela comparação da eficiência de extração no *headspace* de 1-butanol e 1-hexanol utilizados em amostras gasosas, preparadas pela injeção de microlitros de cada álcool em um frasco de 340 mL, o qual permaneceu em repouso (equilíbrio) por 20 min para completa evaporação dos analitos.

As variáveis potencial e quantidade de carga de eletrodeposição foram otimizadas pela comparação da eficiência de extração de compostos presentes em uma matriz complexa (cerveja pilsen) através de um planejamento fatorial completo em dois níveis. O potencial foi estudado na faixa de 1,2 V a 1,8 V e a quantidade de carga entre 0,08 C e 0,40 C. Segundo este planejamento, sete fibras foram fabricadas com a combinação dos valores mínimos, máximos e centrais para as duas variáveis. Essas foram expostas por 10 min no headspace com 10 mL de cerveja pilsen comercial e a separação/deteção realizada no GC-MS, sendo que as respostas foram as áreas de pico dos 17 compostos majoritários extraídos pelas fibras, além de três compostos adicionados: TCA, TBA e PCA. Os outros 17 compostos são acetato de etila, álcool etílico, ácido acético, 3-metil-1-butanol, 2-metil-1-butanol, acetofenona, feniletil álcool, ácido e éster octanóico, 2-fenoxietanol-1-propanol-2,2-hidroxipropil, ácido e éster decanóico, ácido dodecanóico, benzofenona, 1-pentadecanol, ácido n-hexanóico e ácido 2-propanóico.

3.5. Otimização das variáveis de extração dos haloanisóis em água e vinho

A otimização das variáveis na etapa de aplicação da fibra confeccionada para extração de haloanisóis foi realizada em amostras aquosas, em frascos próprios para SPME de 40 mL, com um volume de amostra de 20 mL sob agitação constante. As extrações foram realizadas no headspace e a separação/deteção realizada no GC-ECD, sendo que as respostas utilizadas foram as áreas de pico de cada composto. Nesta etapa utilizaram-se como padrões internos halofenóis em sua forma acetilada, sendo acetil- 2,4,6-triclorofenol (aTCP) para 2,4,6-tricloroanisol e 2,4,6-tribromoanisol e acetil-pentaclorofenol (aPCP) como padrão interno para o pentacloroanisol. Estes foram introduzidos para possível correção dos efeitos de matriz. Realizou-se um planejamento fatorial com as variáveis tempo (20 a 60 min) e

temperatura (40 a 80 °C) de extração e quantidade de NaCl em 20 mL de amostra (0 a 6 g).

3.6. Otimizações quimiométricas

Planejamento fatorial completo em dois níveis foi utilizado para otimização das variáveis de eletrodeposição e de extração. Cada variável foi estudada em um nível máximo (+1) e um nível mínimo (-1), além do ponto central (0). O número de experimentos requerido é dado por $N = 2^k + C$, sendo k o número de fatores e C as replicatas do ponto central. Um modelo da combinação de experimentos entre três variáveis em um planejamento fatorial para com quatro replicatas no ponto central ($N = 2^3 + 4$) está exemplificado na Tabela 2.

Tabela 2. Experimentos requeridos em um planejamento fatorial completo em dois níveis para três variáveis.

Ensaio	Variável 1	Variável 2	Variável 3
1	-1	-1	-1
2	-1	-1	+1
3	-1	+1	-1
4	-1	+1	+1
5	+1	-1	-1
6	+1	-1	+1
7	+1	+1	-1
8	+1	+1	+1
9	0	0	0
10	0	0	0
11	0	0	0
12	0	0	0

Após o planejamento fatorial para otimização das variáveis de extração, empregou-se planejamento com superfície de resposta Doehlert para uma otimização mais apurada da força iônica do meio e temperatura de extração. A quantidade de NaCl foi estudada em 5 níveis e a temperatura de extração em 3 níveis. Um modelo para um

planejamento Doehlert para variável 1 em 3 níveis (1,2 e 3) e variável 2 em 5 níveis (1,2,3,4 e 5) está representado na Tabela 3.

Tabela 3. Ensaios requeridos em um planejamento Doehlert para duas variáveis.

Ensaio	Variável 1	Variável 2
1	1	2
2	1	4
3	2	3
4	2	5
5	3	2
6	3	4
7	2	1

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Confeção das fibras para SPME

4.1.1. Otimização das variáveis da eletrodeposição

Para que a eletropolimerização do pirrol ocorra sobre o fio de NiTi é necessária a presença de um eletrólito suporte que forneça ânions ao processo. Esses ânions (dopante) são incorporados à cadeia polimérica e fazem com que o polímero se torne condutor. Para isso testou-se dois tipos de dopantes: cloreto (solução de KCl) e dodecilbenzenossulfonato (solução DBSNa) de maneira a avaliar qual dos dois apresenta melhor desempenho.

Realizou-se a eletrodeposição utilizando o potencial de 1,5 V/SCE e quantidade de carga (Q) 0,08 C para ambos dopantes. A verificação da eficiência de extração das fibras de polipirrol confeccionadas com cloreto e com DBS foi realizada com experimentos de SPME utilizando os alcoóis 1-butanol e 1-hexanol, em procedimentos de extração com temperatura ambiente, 10 minutos de extração no *headspace* e separação/deteção por GC-MS. A Figura 6 ilustra as extrações comparativas entre as fibras confeccionadas e também para a fibra comercial PA.

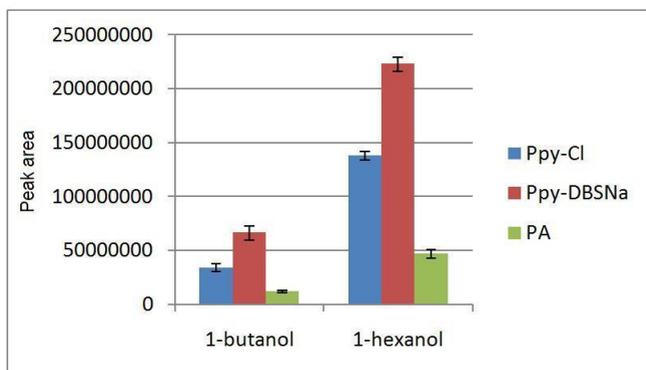
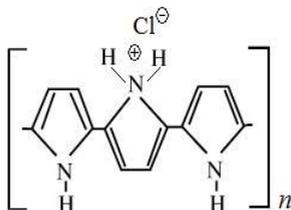


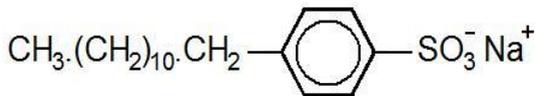
Figura 6. Desempenho das fibras confeccionadas com PPy dopado com cloreto e DBS para extração dos alcoóis: 1-butanol e 1-hexanol.

Conforme a visualização da Figura 6, a utilização do DBS como dopante levou à fabricação de uma fibra mais eficiente, sendo este selecionado para o seguimento dos estudos.

Obteve-se uma maior quantidade extraída dos dois compostos com as fibras PPy-Cl e PPy-DBS comparativamente à fibra comercialmente disponível de PA. Entre os dois dopantes, um dos motivos do melhor desempenho do DBS é o fato deste conferir uma maior hidrofobicidade ao recobrimento relativamente ao uso do cloreto. Esta hidrofobicidade é uma característica da estrutura química dos dois dopantes, um íon inorgânico e outro orgânico (Figura 7). Adicionalmente, através das micrografias eletrônicas (Figura 8) podem-se observar os dois recobrimentos e verificou-se que a superfície do fio de NiTi é mais uniformemente recoberta quando o DBS é utilizado e também possui maior rugosidade, conferindo maior área superficial.



(A)



(B)

Figura 7. Representação: (A) de PPy polimerizado com dopante Cl⁻; (B) da estrutura do dodecilbenzenosulfonato de sódio.

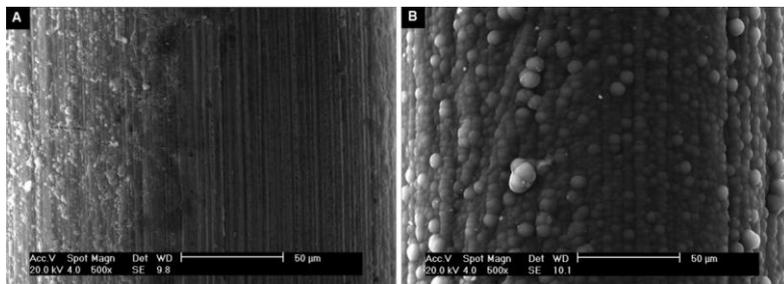


Figura 8. Micrografias eletrônicas comparativas das fibras de PPy confeccionadas com dopante (A) cloreto e (B) DBS com as mesmas condições de eletrodeposição (potencial 1,3 V e quantidade de carga 0,08 C).

4.1.2. Otimização do potencial e quantidade de carga de eletrodeposição de polipirrol-DBS sobre fios de NiTi

O planejamento fatorial completo em dois níveis realizado para otimização do potencial de eletrodeposição e a quantidade de carga resultou na fabricação de sete fibras produzidas a partir da combinação dos potenciais e Q de eletrodeposição. Essas fibras foram submetidas ao procedimento de extração em cerveja pilsen comercial. Conforme sugerido por Silva [49,50], cerveja é uma matriz interessante para o teste de novos materiais sorventes por ser uma matriz complexa, contendo substância polares, apolares, voláteis e semi-voláteis. Como se deseja maximizar a quantidade extraída dos analitos simultaneamente, somente uma resposta foi utilizada, que foi obtida pela soma das áreas de pico dos 20 compostos majoritários normalizada. A Tabela 4 mostra os experimentos deste planejamento.

A partir destes resultados, construiu-se o gráfico de Pareto ilustrado na Figura 9. Em anexo encontra-se um cromatograma realizado com as condições do ponto central deste planejamento (Apêndice 1)

Tabela 4. Experimentos do planejamento fatorial completo em dois níveis para otimização do potencial e quantidade de carga de eletrodeposição de polipirrol em fios de NiTi.

Ensaio	Potencial (V)	Qtde carga (C)	Respostas ^a
1	1,2	0,08	872,3
2	1,8	0,08	526,2
3	1,2	0,40	392,6
4	1,8	0,40	1122,8
5(C)	1,5	0,24	1305,3
6(C)	1,5	0,24	1360,1
7(C)	1,5	0,24	1282,8

^a soma das áreas de pico normalizadas.

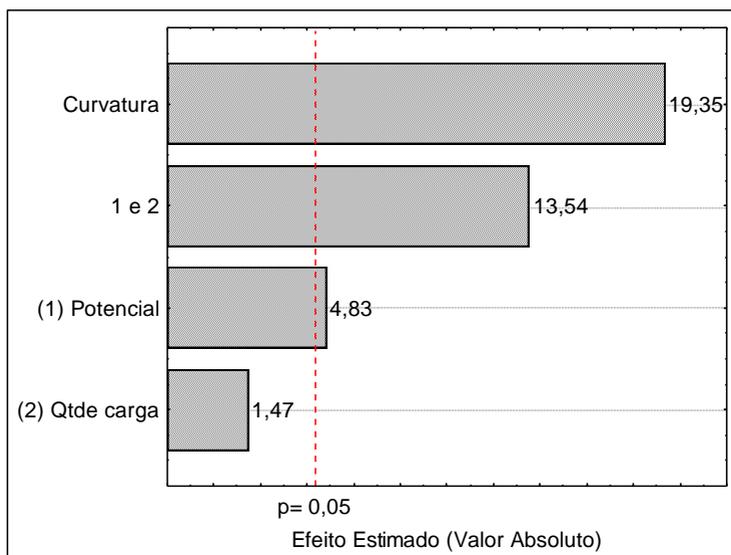


Figura 9. Gráfico de Pareto gerado para otimização de polimerização de PPy no suporte NiTi a partir da soma das áreas de pico normalizadas dos 20 compostos majoritários do planejamento fatorial de potencial de eletrodeposição e quantidade de carga.

Através do gráfico de Pareto observa-se que os valores positivos para os efeitos tanto do potencial quanto da quantidade de carga indicam que os níveis máximos para ambos resultam em fibras mais eficientes, porém, somente o potencial é ligeiramente significativo ao sistema. Já a interação entre as variáveis potencial e Q tem grande influência, e este dado aliado ao fato de a curvatura também ter se mostrado bastante influente, os melhores resultados estão próximos ao ponto central dessas duas variáveis. O esperado para valores maiores de Q é um recobrimento mais espesso e, com a elevação do potencial, um recobrimento com uma maior rugosidade o que confere maior área superficial, devido à formação de aglomerados esféricos e colunares de polipirrol sobre a superfície do suporte. E quando o potencial é aumentado de 1,5 V para 1,8 V observa-se um aumento no grau de organização nas formações esféricas e colunares. Estas características podem ser observadas na seqüência de ampliações das micrografias eletrônicas das fibras confeccionadas com diferentes potenciais na Figura 10 (A, B e C). Contudo, a fibra confeccionada na condição 1,8 V e 0,40 C não foi a que apresentou melhor afinidade pelos analitos nem maior adesão ao suporte de NiTi, pois se observou um desprendimento do recobrimento, que pôde ser visualmente inspecionado e também pela perda da capacidade extratora nas subseqüentes extrações. As fibras confeccionadas na condição 1,5 V e quantidade de carga 0,24 C (ponto central do planejamento) apresentaram o melhor desempenho, tanto relativo à afinidade pelos analitos quanto a não observação de desprendimento do revestimento. Assim, essa condição foi atribuída como ótima para a confecção das fibras.

Realizou-se microanálise da superfície da fibra revestida com PPy-DBS por espectroscopia de energia dispersiva (EDS) (Figura 11). Esta análise evidencia a presença de Ni e Ti do suporte, revela basicamente a presença de carbono e oxigênio, presentes nas estruturas do pirrol e do contra-íon, além da ocorrência de enxofre, que ressalta a incorporação do contra-íon DBS na matriz polimérica.

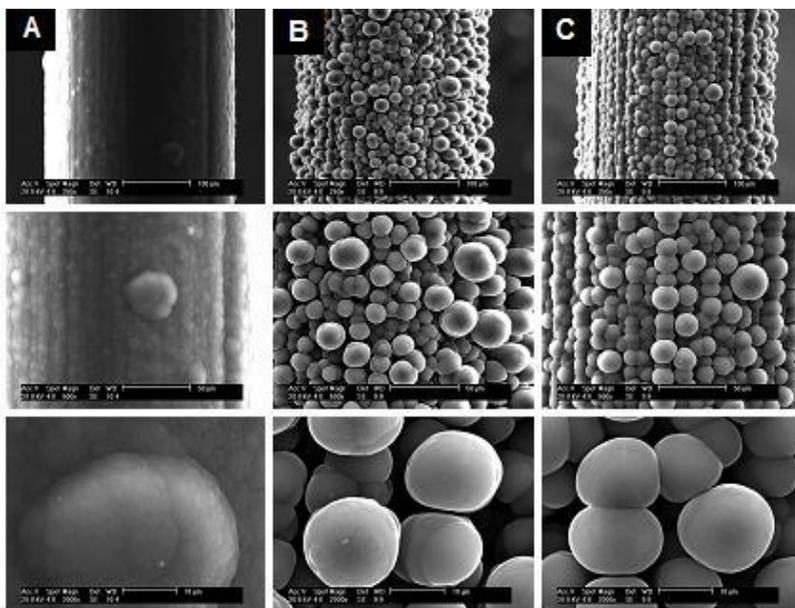


Figura 10. Sequência de ampliações das micrografias eletrônicas para PPy-DBS electrodepositado em potencial (A) 1,2 V, (B) 1,5 V e (C) 1,8 V, e mesma quantidade de carga, 0,40 C.

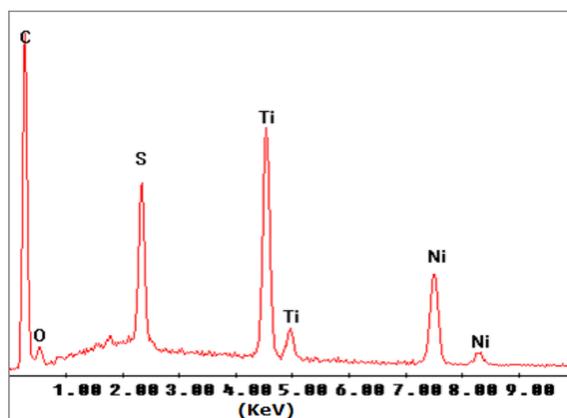


Figura 11. Microanálise por EDS da fibra de NiTi recoberta com PPy-DBS.

4.2. Aplicação da fibra NiTi-PPy na determinação de haloanisóis

4.2.1. Otimização das condições de extração dos haloanisóis em água

Com as condições de fabricação das fibras de polipirrol depositado em fio de NiTi otimizadas, a próxima etapa foi otimizar as variáveis que influenciam na extração dos haloanisóis em água. A temperatura de extração, o tempo de extração e a força iônica da amostra foram otimizadas a partir de um planejamento fatorial completo em dois níveis. A Tabela 5 ilustra os 11 ($2^3 + 3$) experimentos realizados e as respostas analíticas obtidas.

Tabela 5. Experimentos realizados no planejamento fatorial completo em dois níveis para otimização das variáveis de extração dos haloanisóis em água.

Ensaio	Temperatura (°C)	Tempo (min)	Massa NaCl (g/20mL)	Resposta ^a
1	40	20	0	522814
2	40	20	6	1425235
3	40	60	0	929548
4	40	60	6	1282182
5	80	20	0	618043
6	80	20	6	1106321
7	80	60	0	975795
8	80	60	6	1281290
9(C)	60	40	3	1110018
10(C)	60	40	3	1332799
11(C)	60	40	3	1192247

^a Média geométrica das áreas integradas dos três haloanisóis.

Na Tabela 5 a resposta aparece como sendo a média geométrica das áreas integradas para os três haloanisóis, porém o gráfico de Pareto foi plotado tanto para a média quanto para os três compostos

separadamente. A partir da análise dos quatro gráficos (Figura 12 A, B, C e D), decidiu-se por fixar o tempo de extração em 25 min (já que este se mostrou pouco significativo somente para extração de TBA e, além disso, 25 min torna o método mais rápido, devido ao tempo total da corrida cromatográfica, que é de 20 min).

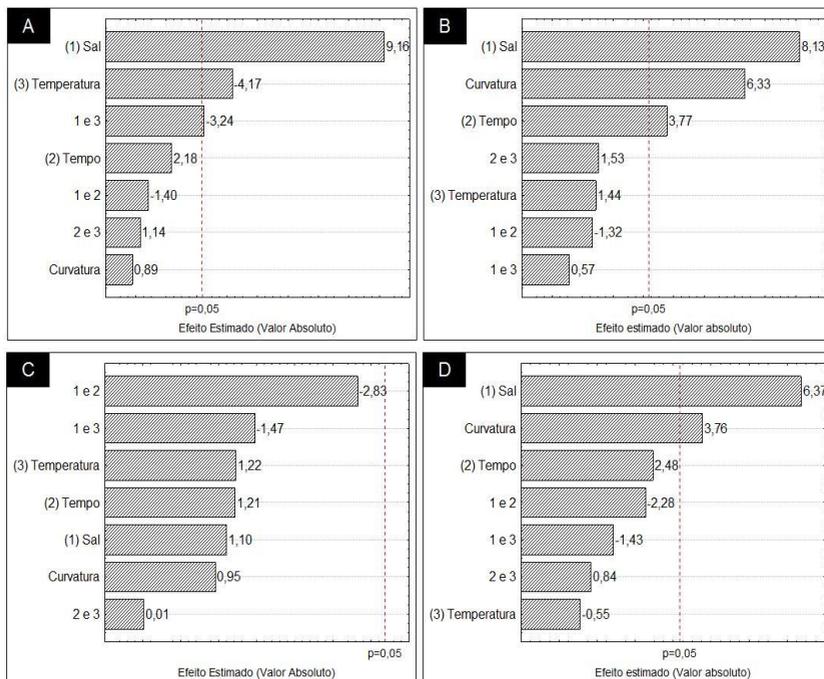


Figura 12. Gráfico de Pareto obtido pelo planejamento fatorial completo na otimização das variáveis de extração de (A) TCA; (B) TBA; (C) PCA e (D) média geométrica das áreas de pico dos três haloanisóis em água.

O aumento da força iônica diminui a solubilidade dos analitos na solução amostra, favorecendo sua passagem à fase de vapor e consequentemente à fibra. De acordo com os gráficos de Pareto para TCA e TBA o nível máximo de força iônica avaliado (6 g de NaCl em 20 mL de amostra) poderia ser utilizado no seguimento do estudo,

porém como a curvatura mostrou-se significativa (TBA) 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 são as que mais influenciam na curvatura. A temperatura mostrou-se significativa para TCA e seu nível mínimo (40 °C) fornece melhor extração que o nível máximo (80 °C), ao se estudar níveis de temperatura, busca-se favorecer a transferência de analitos para a fase gasosa e aumentar a eficiência de extração, entretanto o processo de sorção é exotérmico, assim altas temperaturas podem aumentar a liberação dos compostos para a fase vapor, mas diminuir a extração dos compostos pela fibra. Neste caso o efeito cinético não se sobrepôs ao efeito termodinâmico nos níveis estudados. Sendo assim uma otimização mais refinada da força iônica da amostra e da temperatura de extração foi realizada utilizando a matriz Doehlert a fim de se obter uma superfície de resposta. A Tabela 6 apresenta os 9 experimentos realizados nesta etapa de otimização.

Tabela 6. Experimentos realizados na matriz Doehlert para otimização da força iônica da amostra e temperatura de extração dos haloanisóis em água, com tempo de extração de 25 min.

Experimento	Temperatura (°C)	Massa NaCl (g/20mL)	Resposta ^a
1	40	3	553239
2	40	5	1276253
3	50	4	1079236
4	50	4	995951
5	50	4	1066516
6	50	6	954144
7	60	3	834994
8	60	5	1077114
9	50	2	765558

^a Média geométrica das áreas integradas dos três haloanisóis.

A superfície de resposta foi plotada para TCA, TBA e PCA separadamente, assim como para a média geométrica das áreas integradas dos três compostos. As quatro superfícies apresentaram praticamente o mesmo perfil e resultado. A Figura 13 representa a superfície de resposta gerada para a média geométrica. O ponto de máximo da equação que rege esta superfície representa os valores

ótimos de extração para a força iônica e temperatura de extração, sendo eles na faixa de 5 g NaCl/20mL de água e 50 °C, respectivamente. Visualizando a superfície também se observa esta faixa de valores como sendo os pontos máximos da superfície.

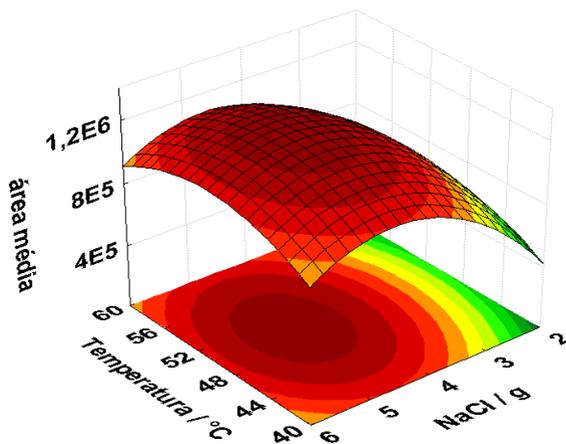


Figura 13. Superfície de resposta para otimização da força iônica do meio e temperatura de extração dos haloanisóis em água.

4.2.2. Comparação da fibra proposta com fibras comerciais e parâmetros analíticos de mérito

Utilizaram-se as condições ótimas de extração dos haloanisóis em água para comparar a fibra proposta com três fibras comercialmente disponíveis: PA, PDMS 100 μm e PDMS/DVB.

Curvas de calibração foram feitas com as quatro fibras numa faixa de concentração de 1 a 100 ng L^{-1} para TCA, TBA e PCA. Nesta etapa dos estudos, introduziram-se halofenóis em sua forma acetilada [51] como padrões internos. O acetil-2,4,6-triclorofenol como padrão interno para TCA e TBA e o acetil-pentaclorofenol para PCA. Os padrões internos foram utilizados pelo fato de que na aplicação da fibra proposta em matrizes diversas, o uso deste pode ser requerido para minimizar os efeitos de matriz e facilitar a calibração pela utilização da curva de calibração obtida em padrões aquosos. A Tabela 7 apresenta os parâmetros analíticos de mérito para TCA, TBA e PCA,

respectivamente, para a fibra proposta e as três fibras comerciais (PA, PDMS/DVB, PDMS 100 μm) para comparação. Os limites de detecção (LD) foram obtidos através dos dados da curva de calibração, ou seja, três vezes o erro do coeficiente linear dividido pelo coeficiente angular e os limites de quantificação (LQ) 3,3 vezes o LD.

Tabela 7. Comparação dos parâmetros analíticos de mérito para extração de haloanisóis em água utilizando as fibras PPy e as comerciais PA, PDMS/DVB, PDMS 100 μm .

	Faixa linear ^a	R ^b	LD (ng L ⁻¹) ^c	LQ (ng L ⁻¹) ^d	RSD, % ^e
TCA					
PPy	16 – 120	0,9979	5	16	9
PA	20 – 120	0,9977	6	20	12
PDMS/DVB	7 – 50	0,9977	2	7	16
PDMS	10 – 100	0,9997	3	10	11
TBA					
PPy	3 – 90	0,9996	1	3	7
PA	10 – 90	0,9982	3	10	5
PDMS/DVB	3 – 40	0,9989	1	3	10
PDMS	3 – 70	0,9998	1	3	10
PCA					
PPy	10 – 100	0,9993	3	10	7
PA	10 – 100	0,9993	3	10	4
PDMS/DVB	10 – 30	0,9959	3	10	16
PDMS	13 – 50	0,9968	4	13	11

^a Faixa linear de trabalho em ng L⁻¹; ^b Coeficiente de correlação linear da curva; ^c Limite de detecção; ^d Limite de quantificação; ^e Desvio padrão relativo com n = 6 em 36 ng L⁻¹.

Os limites de detecção obtidos para os três haloanisóis com a fibra proposta possuem valores comparáveis aos obtidos com as fibras comerciais, todos os valores estão abaixo de 6 ng L⁻¹. Deve-se destacar que os limites sensoriais de percepção para esses compostos segundo a literatura estão na faixa de 10 a 50 ng L⁻¹. Assim, os limites de detecção obtidos pela metodologia proposta são adequados para detecção desses compostos em matrizes aquosas. O método também apresentou satisfatória precisão, com desvio padrão relativo (RSD, n = 6, 36 ng L⁻¹) na faixa de 4 a 16% para todas as fibras utilizadas. As curvas possuem coeficientes de correlação (R) maiores que 0,9959. A faixa linear de

trabalho para a fibra de NiTi-PPy é maior ou igual a das outras fibras. Estes resultados demonstram que a fibra proposta é comparável às outras fibras avaliadas para a determinação dos haloanisóis investigados.

A fibra proposta de NiTi eletrodepositado com polipirrol dopado com DBS mostrou-se uma alternativa atraente ao uso de fibras comercialmente disponíveis, devido a sua maior robustez e facilidade de preparo.

A repetibilidade (para uma fibra) e a reprodutibilidade (fibra para fibra) foram avaliadas a partir de cinco fibras fabricadas nas mesmas condições e submetidas a cinco experimentos com os haloanisóis, nas condições ótimas de extração. A repetibilidade e a reprodutibilidade obtidas em termos de RSD foram melhores que 9% e 17%, respectivamente.

4.2.3. Determinação de haloanisóis em água

A metodologia proposta foi aplicada para análise de amostras de água provenientes de uma piscina com tratamento à base de cloro (Água 1) e da rede de abastecimento de água de Florianópolis na região norte da Ilha (Água 2). A Tabela 8 apresenta os resultados obtidos.

Tabela 8. Concentrações em ng L⁻¹ de haloanisóis nas amostras de água analisadas com a fibra de NiTi-PPy.

	TCA	TBA	PCA
Água 1	<LD ^a	36 ± 7	11 ± 4
Água 2	<LD	25 ± 8	<LD

^a concentração abaixo do limite de detecção.

A água de piscina continha dois haloanisóis investigados em concentrações maiores que a água da rede de abastecimento, por ser uma água que recebe um tratamento extra com aditivos a base de cloro, além de maior incidência de microorganismos, a formação destes analitos é facilitada, conforme descrito anteriormente. TCA e PCA, este em água proveniente da rede de abastecimento, apresentaram concentração abaixo do limite de detecção.

4.2.4. Determinação de haloanisóis em vinho

A metodologia usando a nova fibra de SPME foi aplicada na determinação de haloanisóis em cinco amostras de vinhos tintos secos (vinho tinto 1, 2, 3, 4 e 5) e uma amostra de vinho branco seco (vinho branco) oriundos de Santa Catarina e Rio Grande do Sul. Os resultados podem ser observados na Tabela 9.

Tabela 9. Concentração em ng L^{-1} de haloanisóis em amostras de vinho analisadas com a fibra de NiTi recoberta com PPy-DBS.

Amostra	TCA	TBA	PCA
Vinho tinto 1	<LD ^a	<LD	<LD
Vinho tinto 2	<LD	<LD	<LD
Vinho tinto 3	<LQ ^b	<LQ	1138 ± 115
Vinho tinto 4	<LD	<LQ	874 ± 87
Vinho tinto 5	388 ± 14	544 ± 60	667 ± 85
Vinho branco	<LD	<LD	<LD

^a concentração abaixo do limite de detecção. ^b Concentração detectável, porém abaixo do limite de quantificação.

A utilização do acetil-2,4,6-tribromofenol como padrão interno para 2,4,6-tribromoanisol não foi satisfatória, mesmo melhorando os resultados em aproximadamente 10%, não foi suficiente para corrigir efeitos de matriz e obter sensibilidades relativas (relação entre as inclinações das curvas de calibração em vinho e água) próximas a 100%. Com isso utilizou-se o acetil-2,4,6-triclorofenol como padrão interno para o TBA.

A proposta de utilização do acetil-2,4,6-triclorofenol como padrão interno para 2,4,6-tricloroanisol e para 2,4,6-tribromoanisol, e do acetil-pentaclorofenol para pentacloroanisol mostrou-se adequada para correções de efeitos de matriz e, com isso a calibração do método para determinação desses compostos em vinho foi realizada com a construção da curva de calibração com padrões aquosos. As inclinações das curvas de calibração com padrões aquosos e com adição de padrão para cada amostra foram comparadas com e sem o uso dos padrões internos, ou seja, nos dois casos a inclinação da curva de calibração com padrões aquosos foi dividida pela inclinação da curva com adição de padrão (amostra vinho ou água). Além de corrigir efeitos de matriz quando se analisa vinho, o uso dos padrões internos melhorou as

recuperações também nas análises de água. Os resultados podem ser observados na Tabela 10.

Tabela 10. Comparação das inclinações das curvas em água e em vinho com e sem a utilização dos padrões internos.

	Sem PI (%)	Com PI (%)^a
Água 1		
TCA	75	79
TBA	66	77
PCA	75	87
Água 2		
TCA	95	98
TBA	83	114
PCA	142	84
Vinho tinto 1		
TCA	18	110
TBA	28	91
PCA	24	124
Vinho tinto 2		
TCA	12	96
TBA	16	125
PCA	6	121
Vinho tinto 3		
TCA	18	102
TBA	18	110
PCA	14	125
Vinho tinto 4		
TCA	30	123
TBA	19	97
PCA	24	122
Vinho tinto 5		
TCA	29	106
TBA	25	92
PCA	23	108
Vinho branco		
TCA	5	77
TBA	4	84
PCA	7	94

^a aTCP como PI para TCA e TBA; aPCP como PI para PCA.

As recuperações obtidas sem o uso dos padrões internos possuem valores totalmente fora de aceitação, pois a maioria é inferior a 30%, sendo que o recomendado é na faixa de 70 a 120% [52]. Os valores obtidos de sensibilidades relativas com o uso dos padrões internos foram considerados satisfatórios para as oito amostras (entre 77 e 125%), indicando que a metodologia sofre pouca influência da matriz da amostra, e a calibração externa (padrões aquosos) pode ser eficientemente aplicada em análises quantitativas. Em anexo encontra-se um cromatograma de uma análise realizada em água e em vinho, para simples visualização e comparação (Apêndice 2).

5. CONCLUSÕES

A utilização da liga de NiTi como suporte da fase extratora confere propriedades de superelasticidade e robustez aperfeiçoando a técnica de microextração em fase sólida. Estas características unidas com a facilidade de fabricação e a multifuncionalidade do polímero polipirrol eletrodepositado (tais como interações do tipo π - π , ácido-base e interações dipolo-dipolo, ligações de hidrogênio, e de troca iônica) constituem uma promissora opção de fibra para SPME frente às comercialmente disponíveis.

A metodologia desenvolvida de HS-SPME-GC para haloanísóis foi adequada para as análises das amostras de água e vinho. Os limites de detecção foram de 5, 1 e 3 ng L⁻¹ para os TCA, TBA e PCA, respectivamente. Esses valores estão abaixo dos perceptíveis por humanos, que é de aproximadamente 10 ng L⁻¹ para TCA e superior para os outros haloanísóis.

A utilização de aTCP e aPCP como padrões internos para os haloanísóis foi excelente uma alternativa para minimizar os efeitos da matriz complexa de vinho, as recuperações sem o uso dos padrões internos apresentou valores totalmente abaixo do aceitável e com o uso os mesmos, as novas recuperações ficaram entre 77 e 125%. Com isso a calibração do método para determinação desses compostos em vinho foi realizada com a construção da curva analítica com padrões aquosos. Além disso, as análises de água também foram melhoradas com o uso dos padrões internos.

A fibra de NiTi recoberta com polipirrol-DBS desenvolvida no laboratório apresentou facilidade de preparo, repetibilidade nas extrações, reprodutibilidade entre as mesmas, eficiência de extração similar ou superior às fibras comercialmente disponíveis de PA, PDMS-DVB e PDMS 100 μ m.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ARTHUR, C.L.; PAWLISZYN, J. *Solid-phase microextraction with thermal desorption using fused-silica optical fibers*, **Analytical Chemistry**, 62, p. 2145, (1990).
2. LOUCH, D.; MOTLAGH, S.; PAWLISZYN, J. *Dynamics of organic compound extraction from water using liquid-coated fused silica fibers*, **Analytical Chemistry**, 64 (10) p. 1187(1992).
3. ARTHUR, C.L. *et al.* *Automation and optimization of solid-phase microextraction*, **Analytical Chemistry**, 64 (17) p. 1960 (1992).
4. ALEXANDROU, N.; LAWRENCE, M.J.; PAWLISZYN, J. *Cleanup of complex organic mixtures using supercritical fluids and selective adsorbents*, **Analytical Chemistry**, 64 (3) p. 301 (1992).
5. LIU, Y. *et al.* *Solid-phase microextraction of PAHs from aqueous samples using fibers coated with HPLC chemically bonded silica stationary phases*, **Analytical Chemistry**, 69(24) p. 5001 (1997).
6. DJOZAN, Dj.; ASSADI, Y.; HADDADI, S.H. *Anodized aluminum wire as a solid-phase microextraction fiber*, **Analytical Chemistry**, 73(16) p. 4054 (2001).
7. DJOZAN, Dj.; ASSADI, Y. *Monitoring of polycyclic aromatic hydrocarbons in water using headspace solid-phase microextraction and capillary gas chromatography*, **Microchemical Journal**, 63(2) p. 276 (1999).
8. HU, X.; HU, Y.; LI, G. *Development of novel molecularly imprinted solid-phase microextraction fiber and its application for the determination of triazines in complicated samples coupled with high-performance liquid chromatography*, **Journal of Chromatography A**, 1147(1) p. 1 (2007).
9. FARAJZADEH, M.A.; RAHMANI, N.A. *Electrolytically produced copper(I) chloride on the copper wire as an excellent sorbent for some amines*, **Talanta**, 65(3) p. 700 (2005).

10. MUSTEATA, F.M.; PAWLISZYN, J. *In vivo sampling with solid phase microextraction*, **Journal of Biochemical and Biophysical Methods**, 70(2) p. 181 (2007).
11. ZHANG, S. *et al. In vivo monitoring of the monoamine neurotransmitters in rat brain using microdialysis sampling with liquid chromatography electrochemical detection*, **Biomaterials**, 24 p. 777 (2003).
12. MINJIA, H. *et al. 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**, 1048(2) p. 257 (2004).
13. DOJAN, Dj.; BAHAR, S. *Solid-phase microextraction of aliphatic alcohols based on polyaniline coated fibers*. **Chromatographia**, .59 (1-2) p. 95 (2004).
14. 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**, 73(1) p. 55 (2001).
15. 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**, 1063 p. 1 (2005).
16. LIU, Y.; SHEN, Y.; LEE, M.L. *Porous layer solid phase microextraction using silica bonded phases*. **Analytical Chemistry**, 69(2) p. 190 (1997).
17. BAGHERI, H.; MIR, A.; BABANEZHAD, E. *An eletropolymerized aniline-based fiber coating for solid phase microextraction of phenols from water*, **Analytica Chimica Acta**, 532 p. 89 (2005).
18. 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**, 530, p. 33 (2005)
19. 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**, 543 p. 9 (2005).
20. TAN, L.; CRONE, W.C. *Surface characterization of NiTi modified by plasma source ion implantation*, **Acta Materialia**, 50 p. 4449 (2002).
 21. BUDZIAK, D. *Desenvolvimento de novas fases extratoras para técnicas modernas de preparação de amostras e aplicação em amostras ambientais e matrizes vegetais*, **Tese de Doutorado**, Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal de Santa Catarina (2009).
 22. EISERT, R.; PAWLISZYN, J. *Design of automated solid-phase microextraction for trace analysis of organic compounds in aqueous samples*, **Journal of Chromatography A**, 776 p. 293 (1996).
 23. ALPENDURADA, M. F. *Solid-phase microextraction: a promising technique for sample preparation in environmental analysis - A review*, **Journal of Chromatography A**, 889 p. 3 (2000).
 24. LORD, H., PAWLISZYN, J. *Evolution of solid-phase microextraction technology – A review*, **Journal of Chromatography A**, 885, 153, (2000).
 25. EISERT, R.; LEVSEN, K. *Development of a prototype system for quasi-continuous analysis of organic contaminants in surface or sewage water based on in-line coupling of solid-phase microextraction to gas chromatography*, **Journal of Chromatography A**, 737 p. 59 (1996).
 26. CHIAROTTI, M.; MARSILI, R.; MOREDA-PIÑEIRO, A. *Gas chromatographic-mass spectrometric analysis of residual solvent trapped into illicit cocaine exhibits using head-space solid-phase microextraction*, **Journal of Chromatography B**, 772 p. 249 (2002).
 27. MILLÁN, S. *et al. Coupling solid-phase microextraction and high-performance liquid chromatography for direct and sensitive determination of halogenated fungicides in wine*, **Journal of Chromatography A**, 995 p. 135 (2003).
 28. OLESIK, J.W. *et al. The potential and challenges of elemental speciation by capillary electrophoresis inductively coupled plasma mass spectrometry and electrospray or ion*

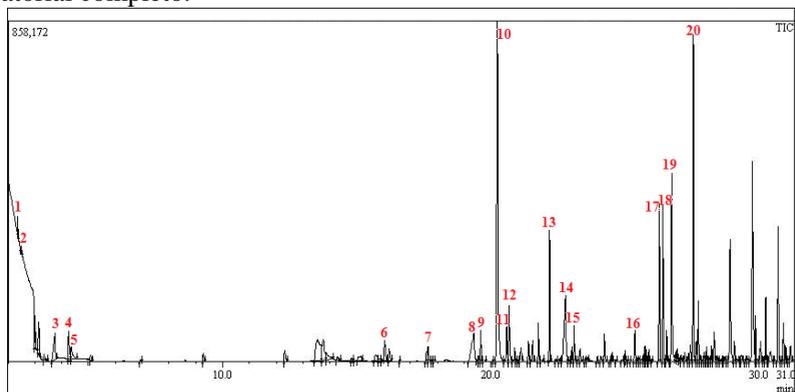
- spray mass spectrometry*, **Spectrochimica Acta Part B**, 53 p. 239 (1998).
29. PROSEN, H.; ZUPANCIC-KRAJL, L. *Solid-phase microextraction*, **Trends in Analytical Chemistry**, 18 p. 272 (1999)
 30. DÓREA, H.S.; GAUJAC, A.; NAVICKIENE, S. *Microextração em fase sólida: aspectos termodinâmicos e cinéticos*, **Scientia Plena** 4, 007720 p.1 (2008).
 31. VALENTE, A.L.P.; AUGUSTO, F. *Microextração por fase sólida*, **Química Nova**, 23 p. 523 (2000).
 32. PAWLISZYN, J. *Solid phase microextraction: theory and practice*, Wiley-VCH, New York, (1997).
 33. OMASTOVÁ, M.; TRCHOVÁ, M.; KOVÁROVÁ, J.; STEJSKAL, J. *Synthesis and structural study of polypyrroles prepared in the presence of surfactants*, **Synthetic Metals**, 138 p. 447(2003).
 34. WU, J.; TRAGAS, C.; LORD, H.; PAWLISZYN, J. *Analysis of polar pesticides in water and wine samples by automated in-tube solid-phase microextraction coupled with high-performance liquid chromatography-mass spectrometry*, **Journal of Chromatography A**, 976 p. 357 (2002).
 35. WU, J.; MESTER, Z.; PAWLISZYN, J. *Speciation of organoarsenic compounds by polypyrrole-coated capillary in-tube solid phase microextraction coupled with liquid chromatography/electrospray ionization mass spectrometry*, **Analytica Chimica Acta**, 424 p. 211 (2000).
 36. WU, J.; PAWLISZYN, J. *Preparation and applications of polypyrrole films in solid-phase microextraction*, **Journal of Chromatography A**, 909(1) p. 37 (2001).
 37. WU, J.; PAWLISZYN, J. *Solid-phase microextraction based on polypyrrole films with different counter ions*, **Analytica Chimica Acta**, 520 p. 257 (2004).
 38. MOLLAHOSSEINI, A.; NOROOZIAN, E. *Polyphosphate-doped polypyrrole coated on steel fiber for the solid-phase microextraction of organochlorine pesticides in water*, **Analytica Chimica Acta**, 638 p. 169 (2009).
 39. MEHDINIA, A.; GHASSEMPOUR, A.; RAFATI, H.; HEYDARI, R. *Determination of N-vinyl-2-pyrrolidone and N-methyl-2-pyrrolidone in drugs using polypyrrole-based*

- headspace solid-phase microextraction and gas chromatography–nitrogen-phosphorous detection*, **Analytica Chimica Acta**, 587 p. 82 (2007).
40. ALIZADEH, N.; MOHAMMADIA, A.; TABRIZCHI, M. *Rapid screening of methamphetamines in human serum by headspace solid-phase microextraction using a dodecylsulfate-doped polypyrrole film coupled to ion mobility spectrometry*, **Journal of Chromatography A**, 1183 p. 21(2008).
 41. MONTES, R. *et al.* *Alternative sorptive extraction method for gas chromatography determination of halogenated anisoles in water and wine samples*, **Analytica Chimica Acta**, 599 p. 84 (2007).
 42. MARDONES, C.; VON BAER, D.; SILVA, J.; RETAMAL, M.J. *Determination of halophenolic wood preservative traces in milk using headspace solid-phase microextraction and gas chromatography–mass spectrometry*, **Journal of Chromatography A**, 1215 p. 1 (2008).
 43. RIU, M.; MESTRES, M.; BUSTO, O.; GUASCH, J. *Determination of total chloroanisoles in different kinds of cork stoppers*, **Analytica Chimica Acta**, 563 p. 310 (2006).
 44. MALLERET, L.; DUGAY, J.; BRUCHET, A.; HENNION, M.C. *Simultaneous determination of “earthy-musty” odorous haloanisoles and their corresponding halophenols in water samples using solid-phase microextraction coupled to gas chromatography with electron-capture detection*, **Journal of Chromatography A**, 999(1-2) p. 135 (2003).
 45. MAGGI, L. *et al.* *Comparison of stir bar sorptive extraction and solid-phase microextraction to determine halophenols and haloanisoles gas chromatography–ion trap tandem mass spectrometry*, **Talanta** 75 p. 753 (2008)
 46. 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**, 1166 p. 1 (2007).
 47. FRANC, C., DAVID, F., REVEL, G., *Multi-residue off-flavour profiling in wine using stir bar sorptive extraction–thermal desorption–gas chromatography–mass spectrometry*, **Journal of Chromatography A**, 1216 p. 3318 (2009).

48. Campillo, N., Peñalver, R., Hernández-Córdoba, M. *Solid-phase microextraction for the determination of haloanisoles in wines and other alcoholic beverages using gas chromatography and atomic emission detection*, **Journal of Chromatography A**, 1210 p. 222 (2008).
49. SILVA, G.A. *Utilização de Métodos Quimiométricos em Cromatografia Gasosa com Microextração em Fase Sólida*, **Tese de Doutorado**, Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, (2007).
50. SILVA, G.A.; AUGUSTO, F.; POPPI, R.J. *Exploratory analysis of the volatile profile of beers by HS-SPME-GC*, **Food Chemistry**, 111 (4) p. 1057 (2008).
51. 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**, 598 p. 254 (2007).
52. RIBANI, M. *et al. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos – Revisão*, **Química Nova**, 27(5) p. 771 (2004).

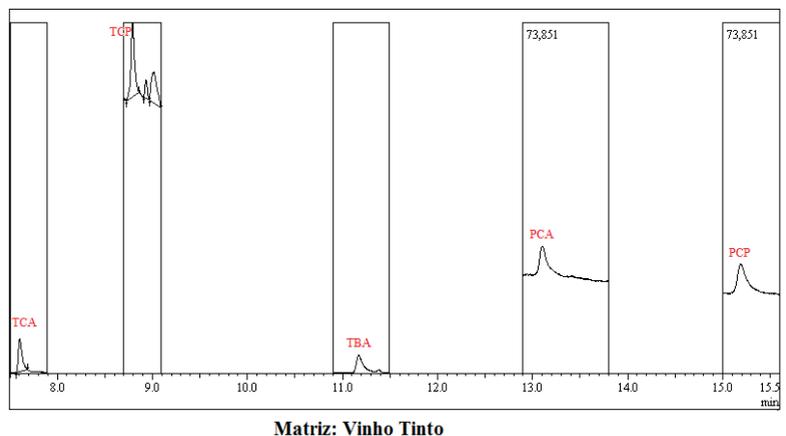
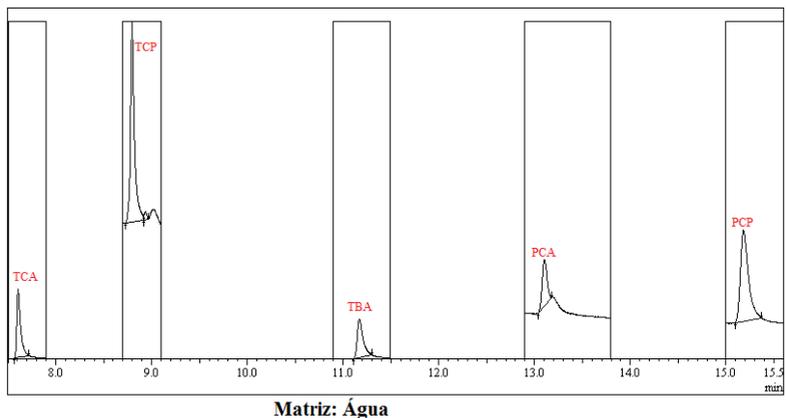
7. APÊNDICES

Apêndice 1 – Cromatograma referente a uma extração (HS-SPME GC-MS) em cerveja com as condições do ponto central do planejamento fatorial completo.



Legenda	Composto	Tr
1	Acetato de etila	2,364
2	2-Álcool etílico	2,622
3	Ácido acético	3,749
4	1-Butanol (3-metil)	4,263
5	1-Butanol (2-metil)	4,360
6	Acetofenona	16,039
7	Feniletíl álcool	17,652
8	Ácido octanóico (ácido)	19,371
9	Ácido octanóico (éster)	19,622
10	2-fenoxi etanol	20,239
11	1-propanol 2,2-hidroxipropil	20,588
12	1-propanol 2,2-hidroxipropil	20,678
13	TCA	22,192
14	Ácido decanóico (ácido)	22,777
15	Ácido decanóico (éster)	23,098
16	Ácido dodecanóico	25,368
17	TBA	26,277
18	Benzofenona	26,409
19	1-pentadecanol	26,737
20	PCA	27,544

Apêndice 2 – Cromatograma comparativo entre uma extração em água e outra em vinho tinto seco (HS-SPME GC-MS), concentração de $1,5 \mu\text{g L}^{-1}$ para os haloanisóis e $2,0 \mu\text{g L}^{-1}$ para os acetil-halofenóis. Modo SIM (monitoramento de íons selecionados) de aquisição de dados.



Íons monitorados

Composto	Íon
TCA	195
TBA	346
PCA	280
TCP	43
PCP	43