



1150060836

IQ
T/UNICAMP R524d

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

INSTITUTO DE QUÍMICA

**DESENVOLVIMENTO DE UMA
SISTEMÁTICA PARA SPME-GC COM
INJETORES DE CONTROLE ELETRÔNICO**

Sandra Regina Rivellino

Orientador: Prof. Dr. Fabio Augusto

Campinas, fevereiro de 2004

DE	FLA
ORIGEM	UNICAMP
CLASSIFICAÇÃO	R524d
EX	
BC	00836
	16-11-04
<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
	18-11-04

ID 331965

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE QUÍMICA
UNICAMP

R524d

Rivellino, Sandra Regina.

Desenvolvimento de uma sistemática para SPME-GC com injetores de controle eletrônico / Sandra Regina Rivellino. -- Campinas, SP: [s.n], 2004.

Orientador: Fabio Augusto.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química.

1. SPME. 2. Pulsed splitless. 3. GC.
I. Augusto, Fabio. II. Universidade Estadual de Campinas. III. Título.

Por todo apoio e incentivo,
dedico este trabalho a toda minha família,
principalmente, meus pais: Antonio e Deolinda,
irmãos: Luiz e Fábio, tias: Cida e Inez e vó: Ana
e, em especial, ao meu futuro marido:
Alexandre, pelo exemplo de determinação.
Ao professor Dr. Fabio Augusto,
pela oportunidade concedida.

AGRADECIMENTOS

Em especial, ao Prof. Dr. Fabio Augusto, pela confiança e oportunidade concedida, pela brilhante orientação e pelos grandes ensinamentos.

A todos os companheiros de trabalho do laboratório de Cromatografia Gasosa do Instituto de Química (Unicamp), que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

A Central Analítica pela concessão das amostras de combustível.

Aos meus familiares, pela paciência, apoio e compreensão e ao meu noivo Alexandre, principalmente, por todo carinho, amor, ensinamentos, companheirismo e incentivo.

A FAPESP, pelo apoio financeiro e acompanhamento do trabalho, via assessoria científica, contribuindo com críticas e sugestões.

A Deus, pela saúde para realização de mais uma etapa de minha vida.

Curriculum Vitae

Sandra Regina Rivellino

1. Formação acadêmica

Pós graduação:

07/2001 - 02/2004: Mestrado em Química Analítica pela Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP): Desenvolvimento de uma sistemática para SPME-GC com injetores de controle eletrônico, sob orientação do Prof. Dr. Fabio Augusto e financiamento da Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP).

Graduação:

08/1996 - 08/2000: Licenciatura em Química pela UNICAMP.

03/1996 - 08/2000: Bacharelado em Química Tecnológica pela UNICAMP.

2. Trabalho Publicado

Augusto, F.; Pires Valente, A.L.; Tada, E.S.; Rivellino, S.R., Screening of Brazilian fruit aromas using SPME-GC-MS, *Journal of Chromatography*, 873 (2000) 117.

3. Experiências profissionais relevantes

07 - 11/2003: Participação no programa de estágio Docente na atividade supervisionada de apoio a docência na disciplina de Química Analítica Instrumental Experimental do curso de Graduação do Instituto de Química, Unicamp. Supervisão: Prof. Dr. Jarbas Rodrigues Rohwedder.

09/1998 - 08/2000: Desenvolvimento do projeto de iniciação científica: Aplicação de SPME-GC a Compostos Orgânicos Voláteis Gerados por Células de Citrus, no departamento de Química Analítica da Unicamp, com orientação do Prof. Dr. Fabio Augusto e financiamento do Serviço de Apoio ao Estudante.

03 - 07/2000: “Quantificação de aditivos em embalagens plásticas” por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC), no Instituto de Tecnologia de Alimentos de Campinas (ITAL). Supervisão: Dra. Leda Coltro.

10 - 12/1999: Montagem de um laboratório de pequena escala incluindo apostila de segurança e as seguintes análises do óleo de murmuru: índice de iodo, índice de saponificação, índice de acidez, índice de peróxidos, materiais insaponificáveis e ponto de fusão para a ALL QUÍMICA (Empresa de Consultoria Júnior), com financiamento da empresa Tawayá Comércio de Produtos do Vale do Juruá - Cruzeiro do Sul – ACRE.

4. Cursos e Participação em Congresso

05/2003: Participação na 26^a Reunião Anual da SBQ em Poços de Caldas/SP ("A Química Torna sua Vida Melhor") com apresentação de poster intitulado: Desenvolvimento de uma Sistemática para SPME-GC com injetores de controle eletrônico.

05/2003: O uso de Química Nova na Escola e dos cadernos Temáticos de QNEsc nas Salas de Aula do Ensino Superior: Um Exemplo na Área de Materiais" ministrado por Glaura Goulart Silva (Departamento de Química- UFMG) na 26^a reunião anual da Sociedade Brasileira de Química.

08/2001: Tópicos Especiais em preparo de amostras e análise cromatográfica de produtos naturais, ministrado pelo prof. Dr. Carlo Bicchi da Universidade de Turim (Itália) no Instituto de Química de São Carlos; USP.

12/1999: Bioquímica da Água - Instituto de Biologia/Unicamp

RESUMO

Desenvolvimento de uma sistemática para SPME-GC com injetores de controle eletrônico

Autora: Sandra Regina Rivellino

Orientador: Prof. Dr. Fabio Augusto

Neste trabalho estudaram-se os efeitos dos parâmetros de injeção com programação eletrônica de pressão em Cromatografia Gasosa (PSI GC) para aplicação de Microextração em Fase Sólida (SPME) com fibras extratoras recobertas com filmes de diferentes propriedades: polidimetilsiloxano - PDMS (extração por partição) e polidimetilsiloxano / divinilbenzeno - PDMS-DVB (extração por adsorção). Soluções teste contendo benzeno, tolueno, etilbenzeno, *o*-xileno e clorobenzeno foram usadas nas otimizações. Os efeitos dos principais parâmetros operacionais dessa modalidade de injeção (pressão de pulso, tempo de pulso e tempo de dessorção) foram estudados simultaneamente com ensaios arranjados em planejamentos fatoriais 2^3 que possibilitaram a construção de superfícies de resposta e otimização destas variáveis. Estudos univariados adicionais foram realizados para avaliar os efeitos de temperatura de dessorção, temperatura inicial da coluna e vazão de gás de arraste. Em relação a dessorção convencional isobárica a aplicação da metodologia otimizada gerou incrementos em sensibilidade, especialmente para a fibra PDMS-DVB (em função da não ocorrência de alargamento do pico cromatográfico com esta fibra). A metodologia desenvolvida foi aplicada na determinação de hidrocarbonetos aromáticos em água contaminada por combustíveis (gasolina e óleo diesel).

ABSTRACT

Development of a Systematic for SPME-GC with Electronically Controlled Injectors

Author: Sandra Regina Rivellino

Supervisor: Prof. Dr. Fabio Augusto

In this work the effects of the injection parameters for the application of Gas Chromatography with Pulsed Splitless Injection (PSI GC) to Solid Phase Microextraction (SPME) using extracting fibers coated with films with different properties - polydimethylsiloxane - PDMS (extraction by partition) and polydimethylsiloxane / divinylbenzene - PDMS-DVB (extraction by adsorption) were studied. Test solutions containing benzene, toluene, ethylbenzene, *o*-xylene and chlorobenzene were employed in the optimizations. The effects of the main operational parameters of this injection mode (pulse pressure, pulse time and desorption time) were simultaneously studied using 2^3 factorial designs which allowed the obtention of response surfaces and optimization of these variables. Additional univariate studies were carried out to assess the effects of desorption temperature, initial column temperature and carrier gas flow. Compared to conventional isobaric desorption, the optimized methodology provided increment on sensitivity, especially for the PDMS-DVB fiber (as consequence of the absence of chromatographic peak broadening with this fiber). The methodology was applied to the determination of aromatic hydrocarbons in water contaminated by fuels (gasoline and diesel oil).

LISTA DE ABREVIACOES E SMBOLOS

a - inclinação da curva analítica

A_c - área média obtida com condições convencionais de dessorção (isobárica)

ANOVA - análise de variância (*Analysis of Variance*)

A_p - área média dos picos cromatográficos com dessorção por programação pneumtica eletrônica

b - intercepto

BTEX - benzeno, tolueno, etilbenzeno e xileno

Bz - benzeno

Clbz - clorobenzeno

Conc - concentração

d_f - diâmetro da fase estacionária

d_i - diâmetro interno

ECD - Detector por Captura de Elétrons (*Electron Capture Detection*)

EPC - Controlador pneumático eletrônico (*Electronic Pneumatic Control*)

Etbz - etilbenzeno

F - vazão de gás de arraste

FID - Detector por Ionização em Chama (*Flame Ionization Detection*)

F_{1, n-2} - teste F, n = graus de liberdade

GC - Cromatografia Gasosa (*Gas Chromatography*)

H - altura equivalente a um prato teórico

HPLC - Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (*High Performance Liquid Chromatography*)

HS - espaço confinante (*Headspace*)

I - Incremento do sinal analítico gerado por programação eletrônica de pressão

ICP-MS - acoplamento de plasma induzido a espectrometria de massa
(*Inductively coupled plasma mass spectrometry*)

I - linear

L - comprimento da coluna cromatográfica

LC - Cromatografia Líquida (*Liquid Chromatography*)

LD - limite de detecção

LQ - limite de quantificação

MQ_{faj}/MQ_{ep} - razão média quadrática falta de ajuste pelo erro puro

MQ_R/MQ_r - razão média quadrática da regressão pela média quadrática dos resíduos

MS - Espectrometria de Massa (*Mass Spectrometry*)

m v e - máxima variância explicada

N - número de pratos teóricos

P - pulso de pressão na cabeça da coluna

P_C - pressão na cabeça da coluna (valor convencional)

PDMS - polidimetilsiloxano

PDMS-DVB - polidimetilsiloxano-divinilbenzeno

PSI - programação eletrônica de pressão no modo split ou splitless (*Pulsed split ou splitless injection*)

PSS - Vaporização por programação de temperatura *split/splitless* (*Programmed split-splitless*)

PTV - vaporização por programação de temperatura (*Programmed Temperature Vaporiser*)

q - quadrático

r - coeficiente de correlação

r (C x P) - correlação entre curvas analíticas obtidas para os métodos de dessorção convencional e pulsada

SMA - método de integração manual, considera a área do início ao máximo de um pico (*Start to Maximum Area*)

SPME - Microextração em Fase Sólida (*Solid Phase Microextraction*)

T_C - temperatura inicial da coluna

T_D - temperatura de dessorção

t_D - tempo de dessorção

t_{eq} - tempo de equilíbrio

t_{ext} - tempo de extração

t_M - tempo de retenção do solvente (metanol)

Tol - tolueno

t_P - tempo pré-estabelecido para o pulso de pressão na cabeça da coluna

t_R - tempo de retenção

t_R' - tempo de retenção ajustado

v e - variância explicada

w_b - largura base do pico (entre as tangentes traçadas do ponto de inflexão nas laterais do pico)

X - *o*-xileno

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Conjunto comercial de fibra de SPME	6
Figura 2. Aplicador comercial para SPME.....	6
Figura 3. Procedimento básico para Microextração em Fase Sólida	8
Figura 4. Representação esquemática dos processos de extração por absorção, adsorção em grandes poros e adsorção em pequenos poros.....	10
Figura 5. Esquema típico de um injetor com divisão <i>split-splitless</i> , operando no modo <i>split</i>	17
Figura 6. Esquema típico de um injetor com divisão <i>split-splitless</i> , operando no modo <i>splitless</i>	20
Figura 7. Variação da pressão no injetor	21
Figura 8. Esquema típico de um injetor <i>on-column</i>	22
Figura 9. Esquema típico de um injetor PTV	25
Figura 10. Cromatogramas correspondentes a dessorção convencional dos analitos teste das fibras PDMS e PDMS-DVB	39

Figura 11. Perfis de tempo de equilíbrio e de extração, para extração do <i>headspace</i> de uma solução estoque com a fibra PDMS.....	41
Figura 12. Perfis de tempo de equilíbrio e de extração, para extração do <i>headspace</i> de uma solução estoque com a fibra PDMS-DVB.....	41
Figura 13. Superfícies de resposta (fibra PDMS).....	47
Figura 14. Superfícies de resposta (fibra PDMS-DVB).....	53
Figura 15. Efeito da temperatura de dessorção (T_D) sobre a área do pico cromatográfico.....	54
Figura 16. Estudo dos efeitos da vazão na coluna e temperatura inicial da coluna.....	56
Figura 17. Cromatogramas obtidos por dessorção com pulso e dessorção convencional dos analitos etilbenzeno e <i>o</i> -xileno (fibra PDMS).....	62
Figura 18. Cromatogramas obtidos por dessorção com pulso e dessorção convencional dos analitos etilbenzeno e <i>o</i> -xileno (fibra PDMS-DVB).....	62
Figura 19. Cromatogramas obtidos por dessorção com pulso e dessorção convencional do benzeno (fibra PDMS).....	63
Figura 20. Cromatogramas obtidos por dessorção com pulso e dessorção convencional do benzeno (fibra PDMS-DVB).....	63

- Figura 21.** Cromatogramas obtidos por dessorção com pulso e dessorção convencional do clorobenzeno (fibra PDMS).....64
- Figura 22.** Cromatogramas obtidos por dessorção com pulso e dessorção convencional do clorobenzeno (fibra PDMS-DVB).....64
- Figura 23.** Ampliação do pico do etilbenzeno obtido por dessorção convencional e por dessorção com pulso (fibra PDMS).....65
- Figura 24.** Ampliação do pico do etilbenzeno obtido por dessorção convencional e por dessorção com pulso (fibra PDMS-DVB).....65
- Figura 25.** Comparação dos picos cromatográficos do etilbenzeno para dessorção convencional e dessorção pulsada.....66
- Figura 26.** Cromatograma referente a extração de uma amostra de água contaminada com gasolina, obtido por dessorção pulsada (fibra PDMS).....68
- Figura 27.** Cromatograma referente a extração de uma amostra de água contaminada com óleo diesel, obtido por dessorção pulsada (fibra PDMS-DVB).....70

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Fibras de SPME disponíveis comercialmente.....	11
Tabela 2. Planejamentos fatoriais 2^3 para a fibra PDMS.....	34
Tabela 3. Planejamentos fatoriais 2^3 para a fibra PDMS-DVB.....	34
Tabela 4. Valores das variáveis dos planejamentos para modelo linear e quadrático	36
Tabela 5. Informações gerais sobre as amostras de gasolina testadas com a fibra PDMS	37
Tabela 6. Informações gerais sobre as amostras de óleo diesel testadas com a fibra PDMS-DVB	38
Tabela 7. Efeitos dos parâmetro de injeção com programação de pressão sobre o sinal analítico (PDMS)	42
Tabela 8. Efeitos dos parâmetros de injeção com programação de pressão (novos níveis avaliados) sobre as áreas dos picos dos analitos (PDMS).....	45
Tabela 9. Valores dos efeitos dos parâmetros de injeção pulsada sobre a área dos picos e erro em % (PDMS).....	45

Tabela 10. Análise de variância para o ajuste dos modelos linear e quadrático para fibra PDMS (todas injeções pulsadas comparadas a uma convencional/dia).....	46
Tabela 11. Análise de variância para o ajuste dos modelos linear e quadrático para fibra PDMS (cada injeção pulsada comparada a uma convencional).....	46
Tabela 12. Efeitos dos parâmetros de injeção com programação de pressão sobre as áreas dos picos dos analitos avaliados e erro em % para a fibra PDMS-DVB.....	49
Tabela 13. Efeitos dos parâmetros de injeção com programação de pressão (novos níveis avaliados) sobre as áreas dos picos dos analitos para a fibra PDMS-DVB.....	49
Tabela 14. Valores dos efeitos dos parâmetros de injeção pulsada sobre as áreas dos picos e valores de erro em % para a fibra PDMS-DVB.....	50
Tabela 15. Análise de variância para o ajuste dos modelos linear e quadrático para a fibra PDMS-DVB.	52
Tabela 16. Condições otimizadas de P, t_p e t_D para as duas fibras: PDMS-DVB e PDMS.....	54
Tabela 17. Condições otimizadas para SPME-GC com injetores de controle eletrônico (fibras PDMS e PDMS-DVB).....	57

Tabela 18. Valores de coeficiente de ajuste e limites de quantificação e detecção (estatísticos) obtidos para a fibra PDMS.....	59
Tabela 19. Valores de coeficiente de ajuste e limites de quantificação e detecção (estatísticos) obtidos para a fibra PDMS-DVB.....	59
Tabela 20. Valores de coeficiente de ajuste obtidos por integração manual do pico cromatográfico (PDMS)	60
Tabela 21. Parâmetros que expressam a qualidade de separação para a fibra PDMS.....	67
Tabela 22. Parâmetros que expressam a qualidade de separação para a fibra PDMS-DVB.....	67
Tabela 23. Quantificação de benzeno em água contaminada com gasolina, por dessorção pulsada e convencional (fibra PDMS)	69
Tabela 24. Quantificação de <i>o</i> -xileno em água contaminada com gasolina, por dessorção pulsada e convencional (fibra PDMS).....	70
Tabela 25. Quantificação de benzeno em água contaminada com óleo diesel, por dessorção pulsada e convencional (fibra PDMS-DVB).....	71
Tabela 26. Quantificação de tolueno em água contaminada com óleo diesel, por dessorção pulsada e convencional (fibra PDMS-DVB).....	71

Tabela 27. Quantificação de etilbenzeno em água contaminada com óleo diesel, por dessorção pulsada e convencional (fibra PDMS-DVB).....72

Tabela 28. Quantificação de *o*-xileno em água contaminada com óleo diesel, por dessorção pulsada e convencional (fibra PDMS-DVB).....72

SUMÁRIO

1. Introdução.....	1
2. Revisão Bibliográfica.....	4
2.1 Microextração em Fase Sólida.....	4
a. Extração.....	6
a1. Seleção do modo de extração.....	9
a2. Seleção da fibra extratora.....	9
a3. Determinação do tempo de extração	12
b. Dessorção	13
2.2 Sistemas de injeção de amostra em Cromatografia Gasosa.....	13
a. Injeção direta.....	14
b. Injetor com divisão <i>split-splitless</i>	15
b1. Modo <i>split</i>	15
b2. Modo <i>splitless</i>	18
b3. Modo <i>pulsed split</i> e <i>pulsed splitless</i>	20
c. Injeção <i>on-column</i>	21
d. Vaporização com Programação de Temperatura (PTV).....	24
d1. Vaporização com Programação de Temperatura <i>Split-Splitless</i> (PSS).....	28
2.3 Formas de dessorção em SPME.....	28
3. Objetivos.....	31
4. Experimental.....	32
4.1 Materiais.....	32
a. Cromatógrafo.....	32

b. SPME.....	32
c. Reagentes.....	32
d. Amostras.....	32
e. Outros.....	32
4. 2 Métodos	33
a. Metodologia de extração	33
b. Determinação das condições cromatográficas.....	33
c. Otimização do tempo de extração e do tempo de equilíbrio.....	33
d. Otimização dos parâmetros operacionais para SPME-PSI	34
e. Construção de superfícies de resposta	35
f. Estudos adicionais univariados (temperatura da coluna, temperatura de dessorção e vazão de gás de arraste na coluna).....	35
g. Construção de curvas analíticas	35
h. Aplicação das metodologias desenvolvidas para PDMS e PDMS-DVB a amostras de água contaminadas com combustível	36
5. Resultados e discussão.....	39
5.1 Otimização do tempo de extração e do tempo de equilíbrio.....	40
5.2 Otimização dos parâmetros operacionais para SPME-PSI.....	40
a. Otimização das variáveis: pressão de pulso, tempo de pulso e tempo de dessorção para PDMS	42
b. Otimização P , t_P e t_D para PDMS-DVB.....	48
5.3 Estudo univariado da temperatura de dessorção	54
5.4 Estudo univariado da variação da vazão de gás de arraste na coluna e temperatura inicial da coluna.....	55
5.5 Construção de Curvas Analíticas.....	58

5.6 Aplicação da metodologia desenvolvida para PDMS e PDMS-DVB a amostras de água contaminadas com combustível.....	67
6. Conclusões	74
7. Referências Bibliográficas.....	75

1. INTRODUÇÃO

O procedimento analítico consiste em várias etapas: amostragem, preparo de amostra, separação, quantificação, determinação estatística e decisão, onde cada etapa é crítica para obtenção de resultados corretos. [1]

Na preparação da amostra os componentes de interesse da matriz são isolados, pois na maioria dos instrumentos analíticos uma análise direta não é possível. A técnica ideal deve ser simples, eficiente, barata, não utilizar solventes (o que além de ser uma fonte de contaminação, requer uma etapa adicional de tratamento de resíduos), ser seletiva e possível de ser mecanizável. [1 - 3]

A Microextração em Fase Sólida (SPME, do inglês Solid Phase Microextraction) é uma técnica de extração e pré-concentração relativamente recente, que possui a maioria dos requisitos citados para uma técnica ser considerada ideal. Destaca-se principalmente por ser rápida, simples, eliminar o uso de solventes orgânicos, diminuir a manipulação excessiva da amostra, requerer apenas uma pequena quantidade de amostra, onde praticamente todo analito extraído pela fase extratora é transferido para a coluna cromatográfica. [3, 4]

O princípio básico de SPME é simples: uma fibra de sílica coberta com um filme de material sorvente (polímeros ou adsorventes sólidos) é exposta a amostra ou ao seu *headspace*. Os analitos são sorvidos na camada de recobrimento da fibra, a qual é posteriormente recolhida e introduzida diretamente no injetor aquecido de um cromatógrafo gasoso, onde os analitos coletados são dessorvidos termicamente no injetor e arrastados para a coluna cromatográfica. [5]

Diversos parâmetros afetam extrações por SPME: tempo de exposição da fibra a amostra, efeito da adição de eletrólitos, velocidade de agitação da solução, pH, dentre outros. Estes têm sido estudados exaustivamente. [6 - 11]

No que se refere ao estudo de variáveis relacionadas a dessorção térmica da amostra (temperatura e tempo de dessorção, pressão no injetor, etc.), que podem influenciar significativamente os resultados de uma determinação por SPME-GC, há um número restrito de trabalhos publicados. Sobre a aplicação de recursos de programação eletrônica de injeção em SPME, não há registros; dos poucos trabalhos encontrados, todos abordam a utilização da sistemática PSI (do inglês, *Pulsed Split ou Splitless Injection*) para injeções líquidas diretas no GC.

Na utilização do recurso de programação eletrônica, a pressão na cabeça da coluna é aumentada por um curto período de tempo durante a injeção da amostra (usualmente 1 ou 2 min), levando a uma maior vazão de gás de arraste no injetor (por ex. 8 a 9 mL min⁻¹ comparado com 0.5 – 1 mL min⁻¹ na injeção convencional) e portanto transporte mais rápido dos vapores da amostra para a coluna cromatográfica. Com estas condições, o tempo de residência dos analitos na câmara de vaporização é muito menor que a injeção convencional, minimizando o contato com as superfícies aquecidas do injetor e, portanto, efeitos de discriminação, adsorção e/ou degradação dos analitos. Ainda em função do aumento da pressão, maiores volumes de amostra podem ser injetados (acima de 5 µL), obtendo-se, conseqüentemente, limites de detecção mais baixos. [12, 13]

O mesmo princípio aplicado no trabalho de Wylie e colaboradores [14], para injeção líquida direta, onde a aplicação de um pulso de pressão por um determinado período, aumenta a transferência dos analitos para a coluna cromatográfica, reduzindo perdas por decomposição térmica da amostra, pôde

ser expandido neste trabalho para dessorção dos analitos da fibra de SPME por Cromatografia Gasosa.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Microextração em Fase Sólida

A técnica foi introduzida por Arthur e Pawliszyn no início da década de 90 [15], sendo que os trabalhos iniciais demonstraram a potencialidade da técnica; p. ex., Arthur e colaboradores [16] quantificaram hidrocarbonetos aromáticos em soluções aquosas diluídas extraíndo-os por SPME (fibras óticas recobertas com 56 μm de PDMS), separando-os e quantificando-os por GC, com limites de detecção de até 1 $\mu\text{g L}^{-1}$ e desvios-padrão relativos de até 6 % entre as replicatas. Buchholtz e Pawliszyn [1] publicaram o primeiro ensaio descrevendo a extração seletiva com fibras recobertas com outros materiais através da quantificação de fenóis em solução aquosa usando fibras de sílica recobertas com 95 μm de poliacrilato e separação e identificação em GC-MS (Cromatografia Gasosa com Detecção por Espectrometria de Massas), com limites de detecção de até 4 ng L^{-1} (para o-nitrofenol e p-cloro-m-metilfenol). [1]

Nos estudos iniciais sobre SPME, a técnica foi otimizada e aplicada a extrações com imersão direta das fibras em amostras aquosas. [16 - 18] Posteriormente foi proposta e avaliada sua aplicação a extração e pré-concentração de analitos em *headspace* [19], demonstrando-se que em relação aos métodos convencionais ela permite melhor repetibilidade e reprodutibilidade. [20] Uma obra [5] compila a teoria básica de SPME, os fundamentos de seu uso em análises e diversos exemplos de sua aplicação. Outros livros recentemente publicados [21, 22 - 24] também abordam teoria, aplicações e muitas considerações práticas em relação a SPME.

Desde sua introdução, a técnica tem sido extensivamente estudada e aplicada a diversas amostras (fármacos, alimentos, aromas, ambientais, etc.) [25]

e freqüentemente a cromatografia gasosa é a técnica instrumental empregada nas determinações por SPME. [2]

O princípio da técnica é a distribuição do analito entre a amostra e um microcomponente extrator, o qual consiste de material sorvente (polímeros ou sólidos adsorventes) que recobre uma fibra ótica de sílica fundida. No dispositivo básico de SPME (comercializado pela Supelco Inc., Bellefont, PA – EUA desde 1993) 10 mm de uma das extremidades de uma fibra ótica de sílica fundida (com 100 mm de comprimento e diâmetro de 110 a 160 μm) são recobertos pelo material sorvente (com espessuras que variam 7 a 100 μm e seus volumes de 0,03 a 7 μL). [26]

Devido a fragilidade, as fibras de SPME são fornecidas montadas no interior de uma agulha hipodérmica (figura 1), e esta acoplada no interior de um aplicador (figura 2). Neste dispositivo, de operação similar a uma seringa convencional, a fibra pode ser retraída para dentro de um tubo hipodérmico durante as operações que possam danificá-la, como transporte e perfurações do septo da amostra e do injetor do cromatógrafo. O aplicador é reutilizável pois permite a troca do conjunto (fibra + agulha) quando necessário. [2, 27]

O procedimento de extração por SPME consiste, basicamente, de duas etapas: sorção (extração) e dessorção dos analitos.

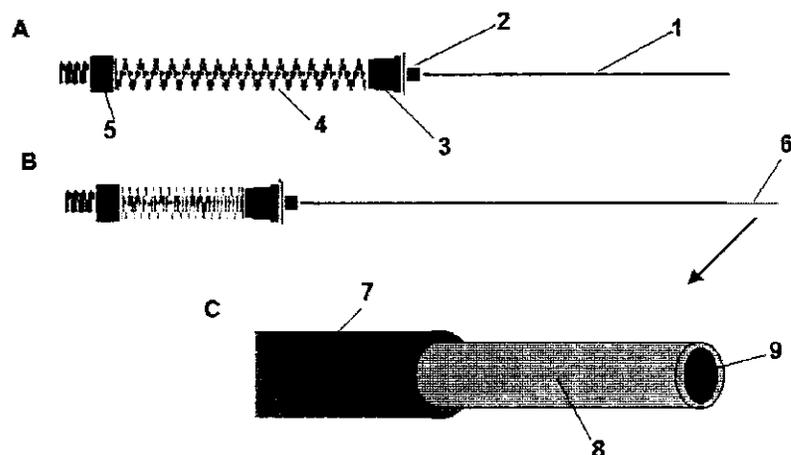


Figura 1. Conjunto Comercial de fibra de SPME. A = fibra retraída no interior da agulha (tubo hipodérmico de diâmetro externo de 0,56mm); B = fibra exposta e, C = detalhe ampliado da fibra de SPME. 1 = agulha de aço inoxidável; 2 = base de latão; 3 = septo de silicone; 4 = mola; 5 = porca; 6 = fibra de sílica recoberta; 7 = sorvente (recobrimento); e 8 = núcleo de sílica fundida. Modificada de [27]

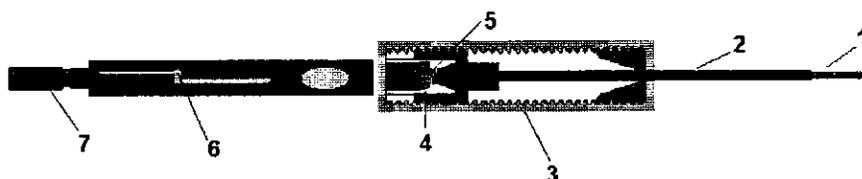


Figura 2. Aplicador comercial para SPME. 1 = fibra de SPME; 2 = agulha de aço inoxidável; 3 = corpo do aplicador; 4 = septo de silicone; 5 = mola; 6 = guia do êmbolo e 7 = êmbolo. Modificada de [27]

a. Extração

Na etapa de sorção, os analitos são extraídos da matriz pela exposição do revestimento da fibra de sílica fundida diretamente a amostra ou ao seu *headspace* (espaço confinante) por um certo tempo pré-determinado, conforme representado na figura 3. [2, 26] Após a etapa de sorção, a fibra é retraída e os analitos retidos são, em seguida, dessorvidos em um instrumento analítico apropriado (Cromatógrafo a Gás, Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência, etc.).

[26] Na GC, a dessorção é realizada termicamente sob fluxo de gás de arraste e os analitos arrastados para a coluna cromatográfica, conforme ilustrado na figura 3. [2] Existem fibras específicas para HPLC (PDMS-DVB, CW - TPR), onde os analitos podem ser removidos e introduzidos na coluna por redissolução com solventes orgânicos apropriados utilizando-se uma interface SPME - HPLC. [2] A SPME também tem sido utilizada em amostragem e introdução direta em espectrometria de massa (MS) bem como no acoplamento com plasma induzido ICP-MS. [6, 28]

Como a extração dos analitos ocorre em microescala (dadas as pequenas dimensões anteriormente mencionadas), os processos de dessorção e separação cromatográfica são facilitados. [2]

Grande atenção deve ser dada as variáveis experimentais: temperatura, adição de eletrólitos a amostra, condições de agitação, tempo de amostragem, volume de amostragem, volume do *headspace*, posição da fibra no frasco de amostragem, e condições de injeção para obter resultados reprodutíveis em SPME. [4]

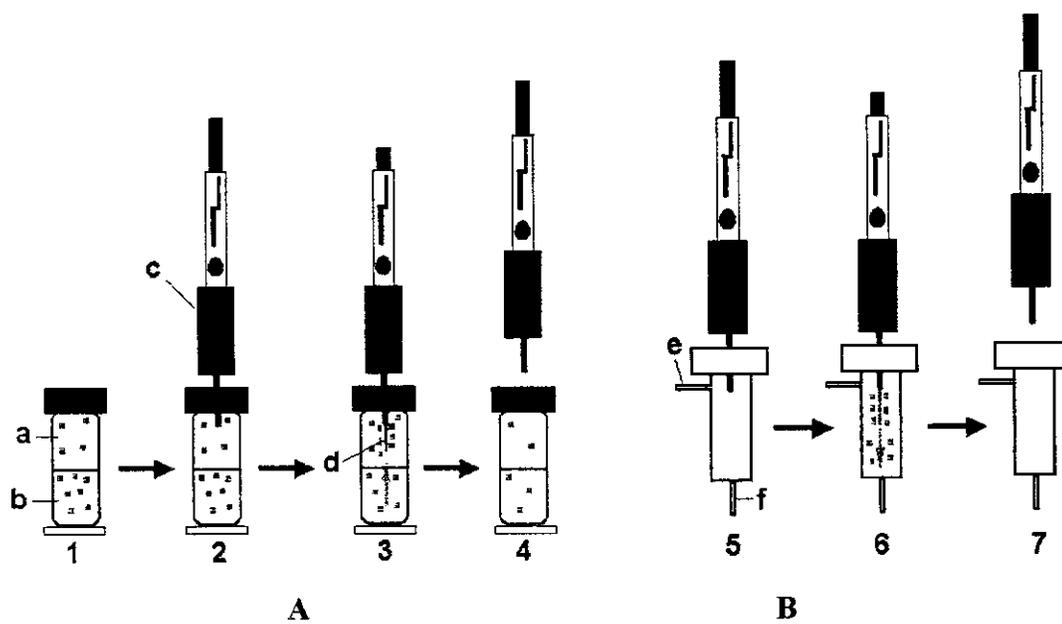


Figura 3. Procedimento básico para Microextração em Fase Sólida: a. *headspace*; b. amostra; c. aplicador; d. fibra extratora; e. entrada de gás de arraste e f. coluna cromatográfica. A = extração; e B = dessorção. 1 = saturação do *headspace*; 2 = perfuração do septo do frasco de amostra; 3 = exposição da fibra de SPME e extração dos analitos; 4 = retração da fibra para o interior da agulha hipodérmica; 5 = perfuração do septo do injetor do GC (ou introdução da agulha na interface SPME - HPLC); 6 = exposição da fibra e dessorção dos analitos; e, 7 = retração da fibra para o interior da agulha.

Na prática torna-se necessária a agitação eficiente da amostra, caso contrário, a velocidade de transferência de massa dos analitos para a fibra é muito lenta. A agitação magnética é provavelmente o método mais conveniente para agitação de amostras líquidas. Ultrassom, vortex e outros métodos de agitação também tem sido usados. [4]

A adição de eletrólito a amostra aquosa altera o equilíbrio possibilitando que uma maior quantidade de analito seja extraído. O pH da amostra pode ser ajustado para obter melhor seletividade: o material sorvente extrai somente compostos na fórmula molecular, íons geralmente não são extraídos. [26, 29] A quantidade de analito extraído também aumenta com a temperatura, devido a

melhor transferência de massa, atingindo-se a quantidade máxima extraída. Acima desse máximo, a quantidade extraída diminui, devido a razões termodinâmicas. [3]

a1. Seleção do modo de extração

A seleção do modo da técnica de extração depende de fatores como: volatilidade dos analitos de interesse e natureza da matriz. As opções são SPME direta e *headspace* (HS-SPME). Na amostragem direta, a fibra é imersa diretamente na amostra líquida ou gasosa (os analitos são transportados diretamente para a fase extratora) enquanto que na HS-SPME, a fibra é suspensa na região que se situa sobre a matriz da amostra e os analitos são primeiramente transportados para o *headspace* e então para a fibra extratora.

A amostragem direta pode ser aplicada para análise de gases e de amostras relativamente limpas e HS-SPME é melhor indicado para amostragem de sólidos e líquidos com um número maior de impurezas, para analitos de média a alta volatilidade. Este último protege a fibra extratora de espécies de alto peso molecular e outras não voláteis presentes em matrizes complexas (como proteínas e matéria orgânica) e também possibilita modificações da matriz sem danificar a fibra, como por exemplo, mudança de pH. [26, 29]

a2. Seleção da fibra extratora

A eficiência de um processo de extração é dependente da constante de distribuição da espécie de interesse e da espessura do recobrimento. A escolha do recobrimento a ser usado na extração vai depender da natureza química das espécies de em estudo. [2, 3]

A tabela 1 lista as fibras disponíveis comercialmente para SPME, sendo que as sugestões são úteis como ponto de partida, mas devem ser conferidas experimentalmente. [2, 3, 30] Conforme o recobrimento da fibra de SPME, a extração pode ocorrer através do processo de adsorção ou absorção.

A diferença fundamental entre adsorção e absorção é que na adsorção as moléculas ligam-se diretamente na superfície de um sólido (por interações de Van der Waals ou por meio de ligações químicas), enquanto que na absorção ocorre a dissolução geralmente em um polímero líquido (figura 4). Para recobrimentos poliméricos, o alto coeficiente de difusão na camada polimérica possibilita a penetração dos analitos na maior parte da fase líquida em um tempo de extração razoável, para filmes de espessura fina. Já na extração por sorventes sólidos, onde a estrutura cristalina é bem definida, o coeficiente de difusão é substancialmente reduzido e, conseqüentemente, a extração ocorre somente na superfície do material poroso. [21, 30]

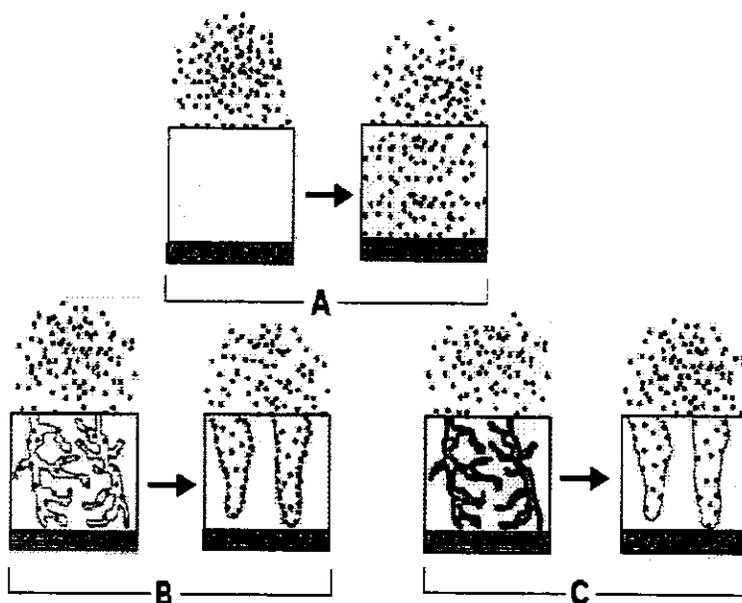


Figura 4. Representação esquemática dos processos de extração por absorção (A), adsorção em grandes poros (B) e adsorção em pequenos poros (C). Modificada de [31]

Tabela 1. Fibras de SPME disponíveis comercialmente (Supelco, Bellefonte PA)

Material de recobrimento	Espessura do filme / μm	$\Delta T / ^\circ\text{C}$	Aplicação geral (propriedades da espécie)
Polidimetilsiloxano (PDMS)	100 ^c	200 – 270	Apolar, volátil
	30 ^c	200 – 270	Apolar, volátil e semi-volátil
	7 ^a	220 – 320	Apolar, semi-volátil e não volátil
Poliacrilato (PA)	85 ^b	200 – 260	Polar, uso geral
Carbowax - divinilbenzeno (CW-DVB)	65 ^b	200 – 260	Polar, volátil
PDMS-DVB	60 ^b	-----	HPLC
	65 ^b	200 – 270	Polar
CW-TPR (templated resin)	50	-----	Polar (HPLC)
Carboxen-PDMS (CAR-PDMS)	75 ^b	200 – 260	Polar, volátil
PDMS-DVB-CAR	50/30	-----	Ampla faixa de polaridade (C ₃ a C ₂₀)

ΔT = faixa de temperaturas indicada para dessorção

a = fase ligada, b = fase parcialmente ligada e c = fase não ligada

a3. Determinação do tempo de extração

O tempo de exposição da fibra na amostra deve ser exato para obter dados reprodutíveis. Geralmente, um estudo cinético da extração é efetuado, e um gráfico do perfil do tempo de extração do analito é construído, relacionando tempo de extração com a quantidade extraída pela fibra. Quando o tempo necessário para estabelecer o equilíbrio for longo, sugere-se a seleção de um tempo de extração menor do que o tempo de equilíbrio. [3]

Uma vez alcançado o equilíbrio, a quantidade extraída é constante dentro dos limites de erro experimental e é independente do posterior aumento no tempo de extração. Para a forma de extração mais simples, imersão direta da fibra extratora em uma solução perfeitamente agitada, as condições de equilíbrio podem ser descritas pela equação 1:

$$n = \frac{K_{fs} \times V_f \times V_s \times C_0}{(K_{fs} \times V_f) + V_s} \text{ (equação 1)}$$

onde n é a massa extraída do analito pelo recobrimento, K_{fs} a constante de partição entre o recobrimento da fibra e a matriz da amostra (característico para cada par analito/material de recobrimento), V_f o volume do recobrimento da fibra, V_s o volume da amostra e C_0 a concentração inicial de um dado analito na amostra. A equação pode ser simplificada (equação 2) quando se estudam sistemas em que o volume da amostra é muito maior do que o da fibra:

$$n = K_{fs} \times V_f \times C_0 \text{ (equação 2)}$$

De acordo com essa equação, a massa extraída aumenta com o volume de recobrimento da fibra, que é uma função da espessura do filme. Na prática, a espessura é limitada a 100 μm pois o tempo para o sistema atingir o equilíbrio é incrementado com a espessura do filme. [1,3]

b. Dessorção

A otimização da dessorção por SPME em GC requer não só o conhecimento das condições cromatográficas como também das interações entre a velocidade de dessorção dos analitos sorvidos (e as características do material sorvente, como a espessura do filme) com os parâmetros de injeção (ex. temperatura e volume do *liner*) [32]. Esta etapa é realizada com a fibra colocada no centro da zona aquecida do injetor, com um valor de temperatura permitido pela fibra e que possibilite a volatilização dos analitos. Como a temperatura do injetor do cromatógrafo é alta, o coeficiente de distribuição filme/fluido diminui e os analitos difundem do material extrator para o fluido de arraste. A velocidade do fluxo de gás de arraste deve ser elevada para assegurar que os analitos sejam imediatamente removidos da superfície do filme. [2,3]

2.2 Sistemas de injeção de amostra em GC

A GC é uma poderosa técnica de separação extensamente aplicada em análise de traços que tem sido desenvolvida por muitos anos com o objetivo de aprimorar seu desempenho, principalmente em relação ao tempo e custo da análise e ampliar a faixa de compostos detectados. Grande atenção tem sido dispensada aos sistemas de injeção da amostra, os quais desempenham papel crítico na obtenção de resultados confiáveis. Nas determinações por esta técnica,

a princípio a amostra precisa ser introduzida instantânea e quantitativamente na coluna cromatográfica, através do fluxo de gás de arraste. [33, 34]

Basicamente, a introdução de amostra em GC pode ser realizada por duas técnicas: injeção *on-column* ou por vaporização. Nesta última, a amostra líquida é vaporizada no injetor a temperatura permanentemente acima da temperatura da coluna ou com aquecimento programado. Já na injeção *on-column* a amostra é introduzida na forma líquida diretamente na coluna cromatográfica. [35 - 37]

O recurso de programação de temperatura do injetor e a introdução *on-column* minimizam os efeitos de degradação térmica gerando incrementos em sensibilidade e reprodutibilidade. [38]

a. Injeção direta

Embora a introdução de amostra em coluna capilar possa ser por injeção *on-column* [34], usualmente ela é realizada por vaporização. Nesta última, a amostra é introduzida no injetor do GC através do septo (localizado na extremidade do injetor) e os vapores formados são carregados pelo fluxo de gás de arraste até coluna cromatográfica (conectada na outra extremidade do injetor). A temperatura alta e constante do injetor é assegurada por um bloco de aquecimento que envolve o mesmo (figura 5). O fluxo de gás de arraste é controlado por um controlador diferencial de fluxo. Alguns aperfeiçoamentos do *design* básico incluem um *liner* de vidro removível para fácil manutenção do injetor e aquecimento mais uniforme desde a extremidade até o topo do injetor, uma linha de purga do septo para diminuir ruídos da linha de base oriundos de impurezas do septo e um controlador eletrônico diferencial de fluxo.

Os controladores diferenciais de fluxo são utilizados porque a resistência da coluna cromatográfica muda consideravelmente com o aumento da temperatura, gerando um decréscimo significativo na velocidade do gás de

arraste a pressão constante na cabeça da coluna. Controladores de fluxo aumentam a pressão de saída em resposta ao aumento da resistência, mantendo um fluxo constante de massa.

Uma desvantagem desta técnica é que a alta temperatura do injetor pode degradar componentes termicamente instáveis da amostra, especialmente se a amostra entra em contato com a superfície metálica. O uso deste tipo de injetor com colunas capilares (diâmetro interno $< 500 \mu\text{m}$) não é apropriado, principalmente se a amostra conter espécies que eluem rapidamente (alargamento de banda pode ser significativo). Ainda, o mecanismo de controle diferencial de fluxo não funciona muito bem com baixa vazão requerida pela coluna capilar, diminuindo drasticamente a reprodutibilidade. [38]

b. Injetor com divisão *split* - *splitless*

Este tipo de injetor é usado para análises nos modos *split* (com divisão), *splitless* (sem divisão), *pulsed split* (pulsada, com divisão) e *pulsed splitless* (pulsada, sem divisão). O modo *split* geralmente é utilizado para a maioria das análises enquanto que o modo *splitless* é utilizado em análise de traços. Os dois últimos modos são similares a estes sem pulso, entretanto, possibilitam a aplicação de um pulso de pressão na cabeça da coluna. [32, 39, 40]

b1. Modo *split* (com divisão)

É a técnica mais popular de introdução de amostra em colunas capilares [38] onde apenas uma pequena parte da amostra vaporizada é dirigida para a coluna cromatográfica, o restante é descartado pela linha de purga do divisor, evitando sobrecarga da coluna e gerando picos com menor largura da banda inicial. [38, 41]

A injeção no modo *split* é utilizada para todos os tipos de colunas capilares, incluindo as de diâmetro interno muito pequeno e, em maior parte, para análise de componentes com concentração entre 0.01-10% em relação a amostra injetada e amostras que não podem ser diluídas. Técnicas adequadas de extração e preparo de amostra ou detectores mais sensíveis muitas vezes são utilizados para estender a aplicação deste tipo de injeção para a determinação de componentes presentes em menores concentrações. [38, 42]

Este modo de injeção também pode ser utilizado no acoplamento com amostragens do tipo *headspace* e válvulas de amostragem para cromatografia gasosa. Estas técnicas requerem altas vazões para transferir amostras gasosas para a coluna, mantendo-se estreita a largura da banda inicial do pico. [11]

A figura 5 representa esquematicamente um injetor com divisão *split-splitless*, operando no modo *split*.

Assim como na injeção direta, o controlador de fluxo total possibilita um fluxo constante e o regulador de pressão na linha do divisor controla a pressão na cabeça da coluna, sendo este último substituído, em injetores modernos, por uma versão eletrônica (EPC, do inglês *Electronic Pneumatic Control*). [38, 43]

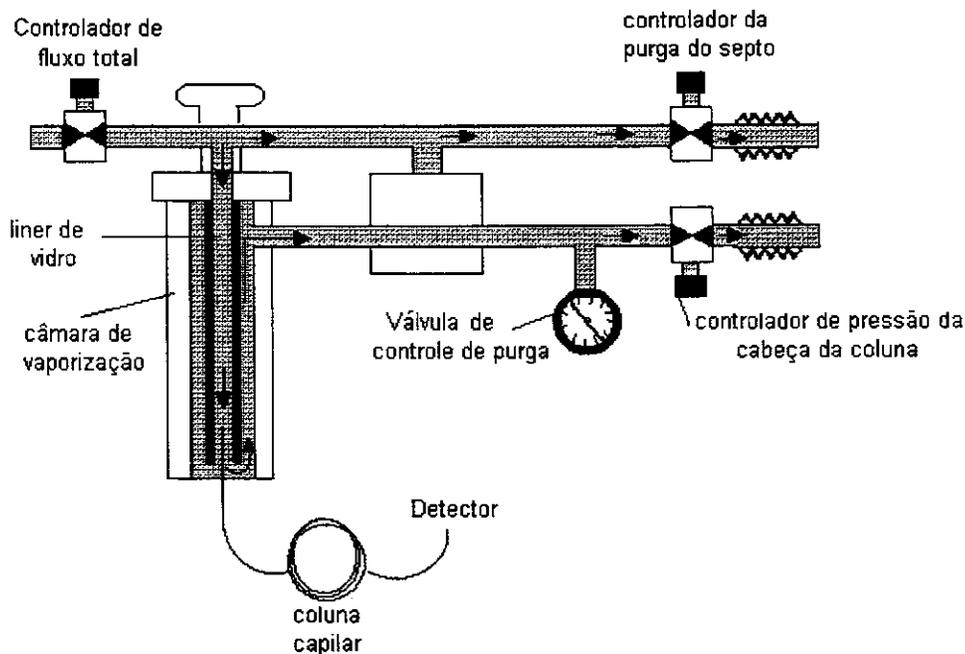


Figura 5. Esquema típico de um injetor com divisão *split-splitless*, operando no modo *split*. [38]

Neste modo de injeção, o fluxo é dividido em três caminhos: a purga do septo, coluna e linha de divisão. O *liner* é uma parte importante do injetor *split* podendo limitar o desempenho da injeção se não for selecionado adequadamente. Para acomodar o volume de vapor expandido, em injetores do tipo *split-splitless* utiliza-se *liner* de vidro ou sílica fundida de diâmetro interno largo (3-5 mm) o que possibilita um baixo fluxo linear no injetor, resultando em baixa transferência dos analitos para a coluna cromatográfica. A válvula de divisão aberta, permite uma banda de injeção estreita e a remoção dos vapores de solvente. Para minimizar a discriminação da amostra, emprega-se *liner* recheado com lã de vidro silanizada ou algum outro componente integrado ao vidro. [5, 38]

Um importante parâmetro a ser conhecido é a razão de divisão que é determinada pela vazão de gás de arraste na entrada da coluna (ponto de divisão) e corresponde a razão entre os fluxos entrando e passando pela coluna. Na

prática a razão de divisão é entendida como a razão entre a vazão de gás de arraste na coluna (F_c) e a vazão na saída da linha *split* (F_v): F_c/F_v .

A vazão da coluna corrigido a pressão e a temperatura ambiente também pode ser determinado pela relação: [34, 41, 42]

$$F_c = \frac{\pi r^2 L}{t_M} \text{ (equação 3)}$$

onde r e L são o raio e o comprimento da coluna e t_M é o tempo gasto por um componente, que não tenha interação com a fase estacionária, para percorrer a coluna cromatográfica.

Nos cromatógrafos modernos, equipados com EPC, o ajuste da razão de divisão

é realizado diretamente, sem a necessidade de ajuste manuais e de realizar medidas de vazão com fluxímetro de filme (bolhometro). [43]

Para entender melhor o significado da razão de divisão, um valor de razão de 100:1, significa que para toda amostra injetada, noventa e nove partes são descartadas e apenas uma parte é introduzida na coluna cromatográfica. A análise de soluções diluídas em colunas capilares de grande diâmetro requerem baixo valor de razão de divisão. Injetores do tipo *split* são indispensáveis em análises com colunas capilares de diâmetro interno inferior a 100 μm , pois a capacidade da coluna é baixa e requer picos estreitos (pequena largura inicial da banda). Para essas colunas, freqüentemente utiliza-se valores de até 500:1 para razão de divisão. [38]

b2. Modo *splitless* (sem divisão)

No modo *splitless* a linha do divisor permanece fechada durante a introdução da amostra, pela ação de uma válvula solenóide, sendo

posteriormente aberta. Este modo é utilizado com colunas capilares para maximizar a sensibilidade da análise e é muito similar ao modo de injeção direta, onde todo ou quase todo o vapor da amostra é introduzido na coluna. É muito utilizado em determinações a nível de traços em amostras ambientais, apesar destas amostras geralmente serem “suja” podendo contaminar a coluna. Como a injeção no modo *splitless* é uma técnica de vaporização, compostos não voláteis ficam retidos no *liner*. [38]

As variáveis do injetor e da injeção que influenciam o desempenho deste modo de injeção, são a temperatura do injetor, da coluna, pressão na cabeça da coluna, volume de injeção, velocidade de injeção e volume do *liner*. A presença de solventes na amostra também influencia a injeção. [38]

Em geral, em função dos vapores da amostra permanecerem no *liner* do injetor aquecido por um longo tempo, torna-se necessário a otimização do tempo de abertura da linha do divisor para minimizar a cauda do pico do solvente. Em determinações em que este último está presente, pode ocorrer discriminação de analitos na agulha da seringa, no injetor, alargamento inicial do pico cromatográfico, degradação da amostra, etc.

Para minimizar estes problemas, utiliza-se *liner* empacotado com pequena quantidade de lã de vidro, amostras dissolvidas em solventes com pontos de ebulição relativamente altos, injeção de volumes pequenos de amostra, ajuste adequado da temperatura do injetor, pressões altas no injetor (de acordo com as limitações da coluna) e lacuna de retenção (*retention gap*) desativada. [38]

A figura 6 ilustra um injetor *split-splitless* operando em modo *splitless*, com a linha de purga do divisor fechada durante a introdução da amostra (todo vapor da amostra é introduzido na coluna cromatográfica). Após um tempo pré-estabelecido, a linha do divisor é então aberta e o injetor opera de acordo com o esquema da figura 5.

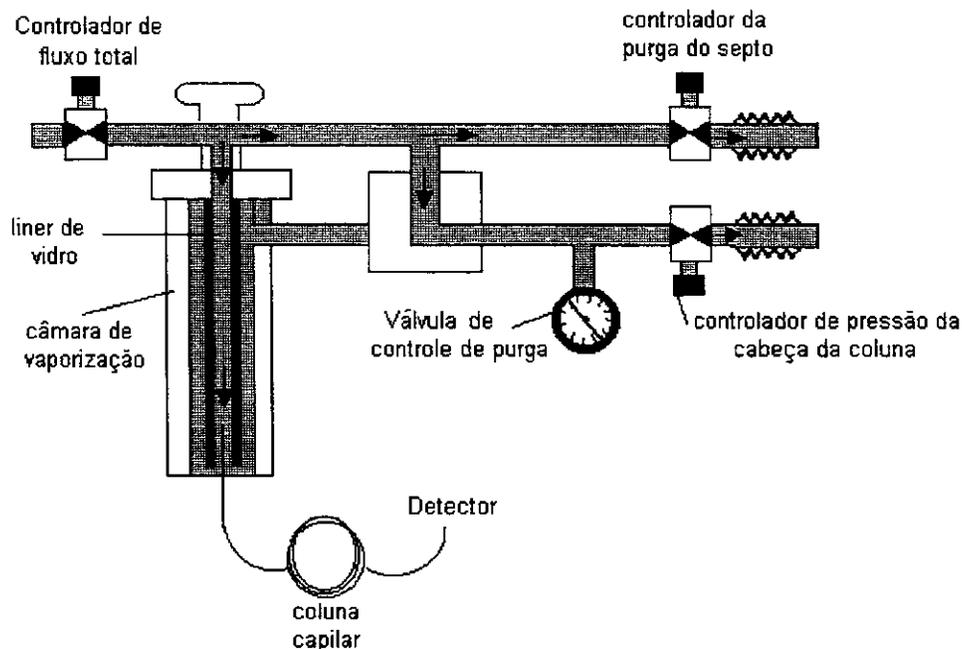


Figura 6. Esquema típico de um injetor com divisão *split-splitless* operando com a linha de purga do divisor fechada, após um tempo pré-estabelecido a linha é então aberta (modo *splitless*). [38]

b3. Modo *pulsed splitless* e *pulsed split* (injeção com pulsos de pressão)

Este modo de injeção requer cromatógrafos a gás equipados com controladores pneumáticos eletrônicos (EPC), que possibilitam programar, de forma confiável, o aumento da pressão do injetor durante a injeção. [14, 39, 43]

A figura 7 ilustra a variação da pressão (P) na cabeça da coluna. Através de programação dos controladores de pressão eletrônicos, inicialmente o injetor opera no modo *splitless* e após um tempo pré-estabelecido (t_p), a válvula do divisor é aberta para que a pressão retorne ao valor normal requerido para a operação da coluna capilar. O injetor permanece nesse modo até o final da corrida. [13, 39]

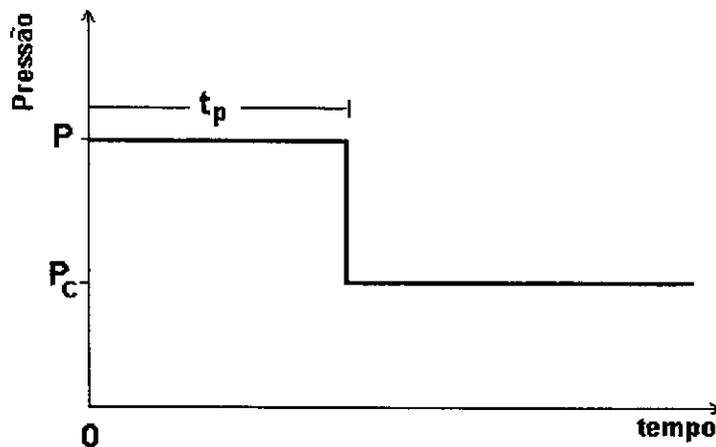


Figura 7. Variação da pressão no injetor: P = pressão no modo *pulsed split* ou *pulsed splitless*, t_p = tempo em que a pressão permanece elevada (valor pré-estabelecido) e P_c = valor de pressão no modo convencional.

c. Injeção *on-column*

A injeção *on-column* foi introduzida no final dos anos 70 a fim de contornar problemas como: não linearidade de divisão da amostra na injeção com divisão, transferência parcial da amostra na injeção sem divisão e evaporação seletiva da amostra na seringa. [41]

Ao contrário de outros modos de injeção em que a amostra é vaporizada em um injetor aquecido e transferida para a coluna cromatográfica, na injeção *on-column* a amostra é transferida da seringa diretamente na coluna cromatográfica, sem sofrer vaporização. Após a injeção as temperaturas da coluna e do injetor, que estavam abaixo da temperatura de ebulição do solvente durante a injeção, são aumentadas para favorecer a transferência do analito através da coluna cromatográfica. [38, 42]

Como a amostra é depositada inteiramente na coluna, a sensibilidade analítica é muito alta e os limites de detecção são geralmente melhores que os

obtidos por injeção *splitless*. Existe a possibilidade de perda de componentes voláteis se houver purga do septo e as temperaturas da coluna e do injetor não estiverem significativamente abaixo do ponto de ebulição do componente mais volátil. Neste caso torna-se necessário o resfriamento criogênico da ponta da coluna, favorecendo também o resfriamento do injetor para a corrida cromatográfica subsequente. [38]

A figura 8 ilustra um injetor *on-column*. A coluna analítica estende-se até o topo do injetor. Septos pré-perfurados (tipo *duckbill*) são utilizados quando seringas com agulhas de sílica fundida são necessárias.

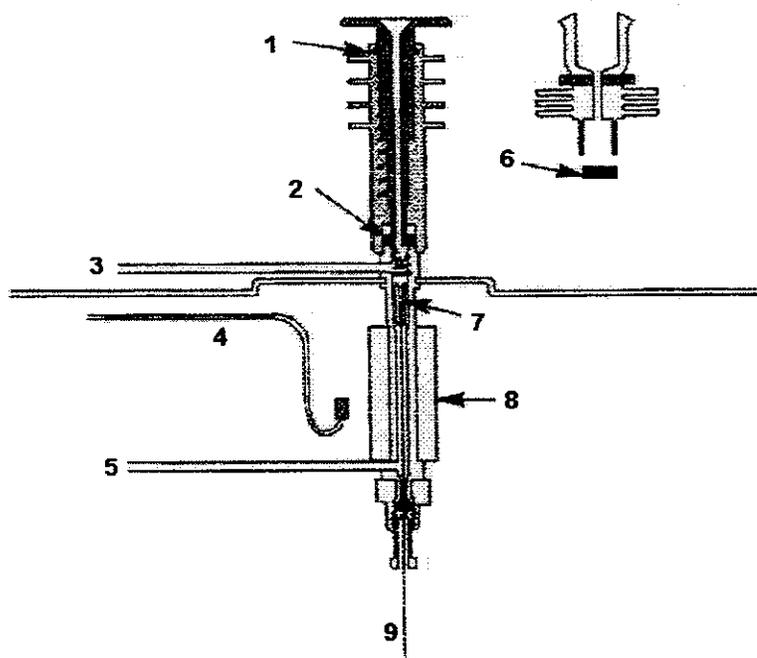


Figura 8. Esquema típico de um injetor *on-column*. 1 = guia da agulha (torre fria); 2 = septo pré-perfurado (tipo *duckbill*); 3 = purga do septo; 4 = resfriamento criogênico; 5 = entrada de gás de arraste; 6 = septo; 7 = inserção; 8 = câmara de aquecimento; 9 = coluna cromatográfica. [38]

Uma das desvantagens da injeção *on-column* relaciona-se ao processo de amostragem, especialmente se a técnica for manual. Colunas com pequeno diâmetro interno requerem manipulação delicada. A introdução direta da amostra em coluna capilar é facilitada com a utilização de uma pré-coluna de grande diâmetro interno ($> 500 \mu\text{m}$) pois podem ser utilizados auto-amostradores e seringas mais robustas (colunas com diâmetro interno menor que $250 \mu\text{m}$ requerem seringas com agulhas de sílica fundida que não perfuram facilmente um septo convencional). [38]

Embora a injeção *on-column* seja uma técnica superior em termos de transferência não discriminativa dos componentes no sistema cromatográfico, as espécies não voláteis ou de alto ponto de ebulição também são depositadas na coluna, tornando-se necessário empregar alguns procedimentos para remover impurezas não voláteis tais como: exposição a altas temperaturas por longo período de tempo, lavagem com diversos solventes ou descarte de parte da coluna após poucas injeções de amostras reais. Tais procedimentos que diminuem a eficiência e vida útil da coluna e geram problemas de linha de base, podem ser evitados com a existência de uma pré-coluna. Entretanto, a necessidade de trocar a pré-coluna após um curto período, além de interromper o trabalho normal, requer uma recalibração do sistema e favorece o alargamento do pico cromatográfico (se o diâmetro interno da pré-coluna for muito maior que o da coluna analítica). [38, 44, 45]

A introdução direta na coluna cromatográfica também pode levar a má separação dos analitos da amostra. Por estas razões, em análise de traços, a injeção *on-column* é aplicada principalmente na análise de traços em amostras limpas ou para aplicações envolvendo *clean-up* da amostra, o que pode ser realizado através do acoplamento LC-GC (a amostra que sai do LC é coletada por um injetor automático e transferida para o GC). [33, 36, 44]

A injeção *on-column* pode ser aplicada para todos os tipos de analitos mas, destaca-se na determinação de compostos termicamente instáveis e amostras contendo compostos com uma larga faixa de ponto de ebulição (50 - 500°C). [38]

d.Vaporização com Programação de Temperatura (PTV, do inglês *Programmed Temperature Vaporizer*)

O conceito de vaporização com temperatura programada foi primeiramente descrito por Abel em 1964. [46] Em 1979, Vogt e colaboradores [47, 48] apresentaram, pela primeira vez, o sistema de injeção PTV. Desde então, este injetor tem recebido considerável atenção como uma alternativa aos injetores convencionais. [35]

O PTV (figura 9) é um injetor com divisão que permite a introdução da amostra a uma temperatura relativamente baixa. Após a injeção, o PTV é rapidamente aquecido para transferir os componentes vaporizados para a coluna cromatográfica. Consiste dos mesmos elementos de um injetor clássico com divisão (figura 5), mas é equipado com um eficiente sistema de aquecimento e resfriamento (realizado por ar, nitrogênio líquido, CO₂ ou sistemas elétricos). [35, 49]

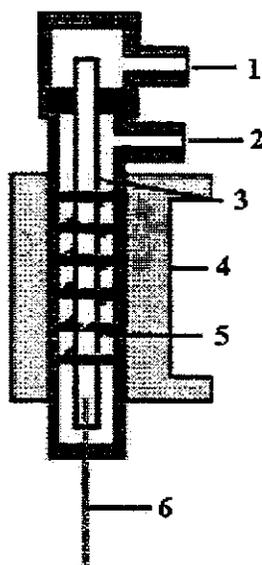


Figura 9. Esquema típico de um injetor PTV; 1 = entrada de gás de arraste; 2 = linha de *split*; 3 = inserção; 4 = resfriamento; 5 = aquecimento e 6 = coluna capilar. [35]

A introdução de amostra no PTV pode ser realizada nos modos: PTV *splitless*, *vapour overflow*, como interface para *on-column* e *solvent split*. [35, 49]

O modo PTV *splitless* foi descrito por Grob e Li [50] em 1988, onde o volume máximo de amostra era de 30 μL . Neste, a amostra é introduzida a temperatura abaixo ou próximo do ponto de ebulição do solvente. Durante a introdução da amostra a válvula de divisão é fechada e o solvente é eliminado através da coluna cromatográfica e os compostos voláteis são trapeados no início da fase estacionária. A vazão através do *liner* é igual a vazão da coluna o que requer um tempo maior para a saída do solvente quando comparado ao modo com divisão.

Mais tarde, Grob [51] mostrou a técnica conhecida como *PTV vapour overflow*, restrita a amostras contendo analitos de maior ponto de ebulição. Neste modo, a amostra é injetada a temperatura acima do ponto de ebulição do solvente e os vapores do solvente são eliminados através da linha de purga do septo, a

válvula de *split* permanece fechada. Os compostos de baixa volatilidade são retidos na parte fria do *liner* e após evaporação rápida do solvente, a temperatura da zona de evaporação retorna a temperatura normal do injetor e a transferência dos analitos para a coluna cromatográfica é iniciada. Quando o *liner* é empacotado com lã de vidro ocorre perdas de n-alcenos até C₂₅, para *liner* empacotado com Tenax recuperações quantitativas foram obtidas para C₂₀ e compostos de maior ponto de ebulição. A técnica também pode ser aplicada para injeção direta de amostras aquosas.

Em 1993, Staniewski e colaboradores [52] mostraram um sistema PTV equipado com uma interface para injeção *on-column*. Após a injeção de 100 µL, a separação do solvente e dos analitos ocorria em uma pré-coluna e o solvente era eliminado antes da coluna analítica. A temperatura inicial do PTV era igual ou ligeiramente acima da temperatura inicial da coluna. Os resultados obtidos para analitos voláteis e termolábeis correspondia aos obtidos para injeção convencional *on-column*.

No *PTV solvent split*, a amostra é injetada com a linha de divisão aberta e o injetor com temperatura abaixo do ponto de ebulição do solvente. Após a eliminação do solvente, os analitos retidos no *liner* são transferidos para a coluna analítica no modo *splitless*. O *liner* deve ser empacotado com lã de vidro, para evitar perda das espécies de interesse pela linha do divisor. O máximo volume de amostra depende das dimensões do *liner* e da quantidade de lã de vidro. O tempo entre injeções e a velocidade de introdução dependem da taxa ajustada para evaporação do solvente. Para analitos mais voláteis são utilizados *liners* empacotados com materiais de adsorção seletiva ou sistemas de GC multidimensional. [35, 45]

Schomburg e colaboradores [45] demonstraram que o PTV oferece muitas vantagens em comparação com as técnicas de injeção a alta temperatura. Como a

amostra é introduzida a baixa temperatura (usualmente abaixo do ponto de ebulição do solvente) e o aquecimento para completa vaporização e transferência dos analitos para a coluna cromatográfica é realizado, a uma velocidade definida, somente após a injeção, efeitos como discriminação de compostos de baixa volatilidade e degradação de analitos termicamente instáveis são minimizados. Em função disto, este tipo de injetor possibilita altos valores de reprodutibilidade e precisão em análise de misturas contendo compostos com uma larga faixa de pesos moleculares, pontos de ebulição e polaridades e evita as variações nas quantidades injetadas e composição original da amostra. [33, 35, 53]

Uma outra vantagem é a possibilidade de injeção de grandes volumes de amostra no sistema cromatográfico (da ordem de mL); a injeção de grandes volumes de amostra não somente aumenta a sensibilidade de um método analítico (diminui o limite de detecção, como também possibilita o acoplamento *on-line* do cromatógrafo a gás com várias técnicas de *clean-up* e pré-concentração como extração líquido-líquido (LLE), extração em fase sólida (SPE), extração em fluido supercrítico (SFE) e extração sortiva em barra de agitação (SBSE). [33, 35, 53] León e colaboradores, por exemplo, utilizaram esta última técnica de *clean-up* e pré-concentração acoplada a PTV-GC-MS na determinação de contaminantes em amostras de água de rio. [53]

A introdução de grandes volumes de amostra também é possível através da injeção *on-column*, entretanto, PTV tem a vantagem dos compostos não voláteis da matriz permanecerem depositados no *liner*. [45] Banfi e colaboradores demonstraram que o injetor PTV no modo com divisão gera resultados comparáveis aos obtidos por injeção *on-column* na determinação de triglicerídeos em manteiga. [49]

d1.Vaporização com Programação de Temperatura Split-Splitless (PSS, do inglês programmed split-splitless)

É um método de injeção similar ao PTV, entretanto, no PSS podem ser selecionadas duas taxas de programação de temperatura no mesmo programa de injeção, enquanto que no PTV somente uma é possível. Um estudo comparativo entre PSS e o modo *splitless* convencional mostrou maior sensibilidade para PSS na determinação de hidrocarbonetos alifáticos presentes a nível de traço em amostra de material atmosférico particulado. [54]

2.3 Formas de dessorção em SPME

Freqüentemente a dessorção dos analitos da fibra de SPME é realizada a temperatura alta e constante para favorecer a difusão dos analitos no gás de arraste. Entretanto, a dessorção por PTV também pode ser utilizada desde que o aquecimento ocorra muito rapidamente após a exposição da fibra ao fluxo de gás de arraste. [5]

Nas determinações por SPME, a qual é uma técnica livre de solvente, o modo *splitless* é desnecessário (com a válvula do divisor fechada, a sensibilidade é máxima). Para que o pico cromatográfico seja estreito, a dessorção dos analitos deve ocorrer rapidamente, o que é possível através do aumento da velocidade de gás de arraste ao redor da fibra. Como na prática, o valor ótimo da vazão de gás de arraste é em torno de 1 mL min^{-1} , a maneira de aumentar a vazão de gás em torno da fibra é reduzir o diâmetro do injetor para um valor o mais próximo possível do diâmetro externo da fibra (tipicamente *liners* com 0,8 mm de diâmetro interno são recomendados). [5]

Um dos primeiros trabalhos que faz referência ao processo de dessorção foi publicado por Pawliszyn e colaboradores [55] em 1992 e traz uma

comparação entre a descrição matemática dos processos de absorção e dessorção com resultados experimentais. Mothes e colaboradores [56] e Santos e colaboradores [57] otimizaram, respectivamente, o tempo de dessorção para a determinação de metais pesados em amostras de água por GC acoplada a Emissão Atômica e de compostos orgânicos voláteis presentes em efluentes industriais por GC-MS. O uso de programação de temperatura de dessorção, assegurando a transferência dos analitos para a coluna sem perdas por degradação térmica já foi estudado na determinação de compostos halogenados em amostras de água por GC-MS e GC-ECD [58]. Testes de dessorção foram realizados na avaliação de um equipamento proposto para o condicionamento de fibras [59] e no estudo do decaimento do sinal analítico com o tempo de armazenamento pré-injeção de alguns pesticidas na fibra extratora. [60] Béne e Luisier [61], por sua vez, avaliaram o efeito de alguns parâmetros como vazão de gás de arraste, temperatura do injetor e detector na resposta gerada por um novo equipamento de GC desenvolvido para determinação rápida de substâncias voláteis. A influência da geometria do volatilizador na dessorção térmica de aditivos (extraídos por SPME do *headspace* de amostras de gasolina) em espectrometria de absorção atômica em forno de grafite foi elucidada em um trabalho desenvolvido por Fragueiro, Moreno e Bendicho. [62] Snow e Okeyo [63] utilizaram SPME para avaliar os efeitos que determinam os alargamentos de pico iniciais em injeções no modo *splitless*.

Philip e colaboradores [13] e Wylie colaboradores [14] avaliaram a ocorrência de uma redução na perda dos analitos por decomposição térmica com a utilização de injeção *pulsed splitless* em amostras de pesticidas, através da injeção direta destes compostos no cromatógrafo a gás, e que esta redução afeta significativamente as determinações quantitativas. Resultados semelhantes

também foram observados na determinação de traços de impurezas termolábeis em amostras de medicamentos. [64]

A aplicação de pulso de pressão na injeção direta no modo *splitless* também demonstrou que reduz efeitos de matriz (componentes da matriz presentes mesmo depois da etapa de *clean-up*) na determinação de espécies presentes em baixas concentrações, como por ex. determinação de resíduos de pesticidas em amostras vegetais. [12, 33, 65] Vicenti e colaboradores [66] demonstraram que na utilização de programação eletrônica de pressão em GC, tanto o desempenho analítico como os cromatogramas obtidos para polihidroxipCB, compostos sujeitos a grave discriminação, assemelham-se aos obtidos por injeção *on-column*.

3. OBJETIVOS

A proposta do trabalho foi avaliar a influência das variáveis, envolvidas no processo de dessorção, no sinal analítico para otimizar uma sistemática para aplicação de PSI GC em SPME. A metodologia desenvolvida foi comparada a dessorção convencional e aplicada a amostras de água contaminadas com combustíveis.

O trabalho foi desenvolvido para fibras extratoras recobertas com filmes de diferentes propriedades (absortivas e adsortivas), nas seguintes etapas:

- Definição das condições de separação cromatográfica dos analitos;
- Determinação das principais variáveis envolvidas em extrações por *headspace* de analitos modelo (benzeno, tolueno, clorobenzeno, etilbenzeno e *o*-xileno) em amostras aquosas: tempo de equilíbrio e pré-equilíbrio para duas fibras extratoras.
- Otimização de parâmetros operacionais para SPME-PSI GC: temperatura do injetor, tempo de dessorção, pressão e tempo de pulso, temperatura e vazão do gás de arraste na coluna.
- Comparação da metodologia desenvolvida para SPME-PSI GC com a dessorção convencional isobárica.
- Aplicação da metodologia desenvolvida para amostras de água contaminadas com óleo diesel e gasolina.

4. EXPERIMENTAL

4.1 Materiais

a. Cromatógrafo: Todos os ensaios foram realizados no cromatógrafo HP6850 (Agilent Technologies, Wilmington, DE), equipado com FID (Detector por Ionização em Chama), injetor tipo *split - splitless* com *liner* para SPME de $d_i = 0,75\text{mm}$ e coluna cromatográfica capilar de fenilmetilsiloxano HP-5 (Agilent), $L = 30\text{m}$, $d_i = 0,32\text{mm}$, $d_f = 0,25\mu\text{m}$.

b. SPME: Fibras recobertas com $100\ \mu\text{m}$ de polidimetilsiloxano (PDMS) e $65\ \mu\text{m}$ de polidimetilsiloxano-divinilbenzeno (PDMS-DVB) conectadas a um aplicador 5-7330 (Supelco Bellefont – PA, EUA). As fibras foram condicionadas antes do uso segundo as instruções do fabricante e, entre extrações, as fibras foram mantidas por 3 min no injetor aquecido do GC para eliminar possíveis resíduos que poderiam interferir nos resultados.

c. Reagentes: Álcool metílico (Vetec; Rio de Janeiro; Brasil), benzeno (Químibrás; Rio de Janeiro; Brasil), tolueno P.A. (Vetec; Rio de Janeiro; Brasil), clorobenzeno (Químibrás, Rio de Janeiro; Brasil), etilbenzeno (Fluka; Buchs; Suíça) e *o*-xileno (Berse; Campinas, Brasil). A pureza dos reagentes foi checada com injeções individuais dos mesmos. As soluções estoque, preparadas em álcool metílico, foram diluídas em água destilada.

d. Amostras: As amostras de gasolina e óleo diesel foram fornecidas pela Central Analítica do Instituto de Química da Unicamp. Por razões de ordem legal, apenas a procedência (região de coleta) de cada amostra pôde ser informada.

e. Outros: As extrações foram efetuadas em frascos para amostras (de 16 mL de vidro e fundo reto), com septos de silicone/teflon (Supelco) e micro-

barras de agitação de teflon (3 mm de diâmetro e 5 mm de comprimento). Para o preparo de soluções-estoque, diluições e dopagens, foram utilizadas microseringas de 10 μL (Hamilton; Reno, Nevada). Para a simulação de contaminação de água com gasolina e água com óleo diesel foram utilizados balão de fundo redondo (125 mL) com tampa esmerilhada, funil de separação de 25 mL e provetas de 10 e 100 mL.

4.2 Métodos

a. Metodologia de extração: Para os ensaios a seguir, extrações do *headspace* de 10 mL de soluções aquosas contendo 150 $\mu\text{g L}^{-1}$ de cada analito teste foram extraídas por 5 min com fibra PDMS, após 5 min de equilíbrio e agitação magnética de 1200 rpm. Para PDMS-DVB adotaram-se: 3 min de equilíbrio e 10 min de extração, para soluções contendo 75 $\mu\text{g L}^{-1}$ de cada analito teste.

b. Determinação das condições cromatográficas: As condições cromatográficas para os procedimentos convencionais de SPME foram: programação de temperatura da coluna: 1 min a 70°C \rightarrow 4°C min^{-1} \rightarrow 100°C; detector: 250°C; injetor: 250°C e vazão de gás de arraste (He): 1,5 mL min^{-1} . Para a injeção pulsada, os valores de temperatura da coluna, injetor e vazão de gás de arraste foram otimizados.

c. Otimização do tempo de extração e de equilíbrio: Para esta etapa adotou-se o procedimento descrito em [5]. Para PDMS, foram estudados tempos de extração de 0,25 a 30,00 min e de equilíbrio de 1,00 a 15,00 min e para PDMS-DVB, tempos de extração de 1,0 a 20,0 min e de equilíbrio de 1,0 a 15,0 min.

No estudo do tempo de equilíbrio, fixou-se o tempo de extração em 5 e 10 min para as fibras PDMS e PDMS-DVB, respectivamente.

d. Otimização dos parâmetros operacionais para SPME-

PSI [67]: Nesta etapa, foram adotadas metodologias multivariadas para otimizar os parâmetros relevantes: pressão de pulso (P), tempo de pulso (t_p) e tempo de dessorção (t_D), sendo a variável t_D controlada pelo experimentador. Foram feitas séries de extrações do *headspace* da solução teste com as condições descritas em 4.2a. dessorvendo os analitos com variações de P, t_p e t_D . Os ensaios foram arranjados em um planejamento fatorial 2^3 , com os níveis para as variáveis P, t_p e t_D descritos nas tabelas 2 e 3.

Tabela 2. Planejamentos fatoriais 2^3 para a fibra PDMS

Planejamento	P / psi		t_p / min		t_D / min	
	-	+	-	+	-	+
1	25	35	0,35	0,65	0,50	1,00
2	15	25	0,65	0,95	0,30	0,60
3	15	25	0,35	0,65	0,30	0,60
4	35	45	0,35	0,65	0,20	0,30

nível inferior (-) e superior (+)

Tabela 3. Planejamentos fatoriais 2^3 para a fibra PDMS-DVB

Planejamento	P / psi		t_p / min		t_D / min	
	-	+	-	+	-	+
1	25	35	0,35	0,65	0,50	1,00
2	35	40	0,65	0,95	1,50	2,00
3	35	40	0,35	0,65	1,00	1,50

nível inferior (-) e superior (+)

Os resultados foram processados no software FATORIAL [68] para avaliar os efeitos destas variáveis sobre o sinal analítico e estabelecer um provável ponto de maior incremento (ponto central).

e. Construção de superfícies de resposta: As superfícies de resposta foram obtidas através do deslocamento dos parâmetros de *PSI* em torno do ponto central otimizado para cada analito na etapa 4.2d. Para esta etapa, inicialmente admitiu-se que a superfície de resposta na região investigada era uma função linear dos fatores, tornando-se necessário um planejamento que permitisse varrer três níveis de cada fator e a verificação da existência ou falta de ajuste para o modelo linear. Na falta de ajuste para alguns analitos, o planejamento inicial foi expandido com o acréscimo de um planejamento idêntico girado de 45° com relação a orientação de partida (planejamento estrela). A tabela 4 mostra os planejamentos realizados para as fibras PDMS e PDMS-DVB.

f. Estudos adicionais univariados : temperatura inicial da coluna (T_C), temperatura de dessorção (T_D) e vazão do gás de arraste na coluna (F): Para o procedimento otimizado de SPME-PSI GC estabelecido na etapa anterior, realizaram-se estudos univariados adicionais com valores de temperatura de dessorção (de 220 a 280°C); temperatura inicial da coluna (40 e 70°C) e vazão de gás de arraste (1,0 a 3,0 mL min⁻¹). Para PDMS-DVB, foram avaliados os mesmos valores de T_C e F e T_D de 235 a 265°C.

g. Construção de curvas analíticas: Curvas analíticas foram construídas utilizando-se soluções com concentrações na faixa de 60 – 400 µg L⁻¹ de cada analito teste para PDMS e 30 – 200 µg L⁻¹ para PDMS-DVB. As extrações foram realizadas de acordo com o procedimento descrito em 4.2.a. Para a dessorção utilizou-se os parâmetros otimizados nas etapas anteriores,

comparando-se com curvas idênticas obtidas nas condições convencionais de dessorção.

Em todas as etapas descritas os ensaios foram realizados em triplicata, sendo os desvios padrão relativos inferiores a 8%.

Tabela 4. Valores das variáveis dos planejamentos para modelo linear e quadrático

Fibra		PDMS					PDMS-DVB			
Analito		Bz e Clbz		Etbz e X			Bz, Etbz e X		Tol e Clbz	
Modelo	Ensaio	P/psi	t _p /min	P/psi	t _D /min	P/psi	t _p /min	P/psi	t _D /min	
L I N E A R Á T I C O	Q	1	30	0,55	30	0,20	30	0,55	30	0,80
	U	2	40	0,75	40	0,20	40	0,55	40	0,80
	A	3	30	0,75	30	0,40	30	0,75	30	1,20
	D	4	40	0,65	40	0,40	40	0,75	40	1,20
	R	5	35 ^a	0,65	35	0,30	35	0,65	35	1,00
	Á	6	35 ^a	0,65	35	0,30	35	0,65	35	1,00
	T	7	35 ^a	0,65	35	0,30	35	0,65	35	1,00
	I	8	28	0,65	28	0,30	28	0,65	28	1,00
	C	9	42	0,65	42	0,30	42	0,65	42	1,00
	O	10	35	0,51	35	0,16	35	0,51	35	0,70
		11	35	0,79	35	0,44	35	0,79	35	1,30

a. ponto central (ensaio em triplicata)

h. Aplicação das metodologias desenvolvidas para PDMS e

PDMS-DVB a amostras de água contaminadas com combustível: A

sistemática desenvolvida para SPME-GC com injetores de controle eletrônico para a fibra PDMS foi aplicada no monitoramento de benzeno e *o*-xileno em

amostras de água contaminadas com gasolina (tabela 5). Para a fibra PDMS-DVB, a metodologia otimizada foi aplicada na determinação de BTEX em amostras de água contaminadas com óleo diesel (tabela 6).

Para cada amostra, a simulação da contaminação foi feita pela adição de 10 mL de gasolina em 200 mL de água destilada. O sistema contendo as duas fases foi fechado, permanecendo em repouso por 24h (a temperatura ambiente); 10 mL da fase aquosa diluída (1:40) foi extraída por 5 min com a fibra PDMS, após 5 min de pré-equilíbrio e agitação magnética de 1200 rpm. [69] Para a fibra de PDMS-DVB, o procedimento de simulação de contaminação foi o mesmo, entretanto, para as amostras de óleo diesel, a fase diluída foi extraída por 10 min, após 3 min de pré-equilíbrio e agitação magnética de 1200 rpm.

A identificação dos analitos foi realizada por injeção de padrões e a quantificação pelo método de adição de padrão através de curvas analíticas de 0 - 430 $\mu\text{g L}^{-1}$ para PDMS e 0 - 200 $\mu\text{g L}^{-1}$ para PDMS-DVB.

Tabela 5. Informações gerais sobre as amostras de gasolina testadas com a fibra PDMS

Amostra	Procedência	Data de coleta	Tipo
1	Campinas/SP	20/12/02	Aditivada
2	Piracaia/SP	06/01/03	Comum
3	Salto de Pirapora/SP	10/01/03	Comum
4	Campo Limpo Paulista/SP	11/12/02	Comum
5	Boituva/SP	14/12/02	Comum

Tabela 6. Informações gerais sobre as amostras de óleo diesel testadas com a fibra PDMS-DVB

Amostra	Procedência	Data de coleta
1	Itapira/SP	15/09/03
2	Campinas/SP	08/09/03
3	Rio Claro/SP	10/09/03
4	Leme/SP	03/09/03

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram selecionadas as fibras PDMS e PDMS-DVB em função dos diferentes mecanismos de extração: partição para a primeira e adsorção¹ para esta última. Além disso, a fibra PDMS é mais utilizada em aplicações gerais. [5]

A figura 10 mostra os cromatogramas dos analitos teste extraídos pelo método convencional de HS-SPME (isobárica) nas condições otimizadas de separação.

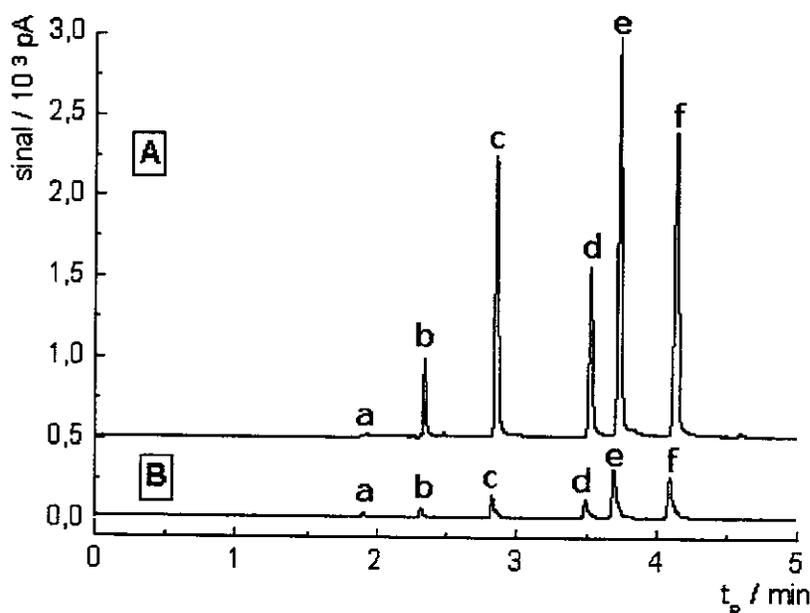


Figura 10. Cromatogramas correspondentes a extração de uma solução de (A) 75 μg L⁻¹ de cada analito teste com a fibra PDMS-DVB e (B) 150 μg L⁻¹ de cada analito teste com a fibra PDMS. Ambos os cromatogramas foram obtidos por dessorção convencional. a – metanol (t_R = 1,92 min (A) e 1,90 min (B)), b - benzeno (t_R = 2,35 min (A) e 2,32 min (B)), c – tolueno (t_R = 2,86 min (A) e 2,83 min (B)), d – clorobenzeno (t_R = 3,52 min (A) e 3,49 min (B)), e – etilbenzeno (t_R = 3,73 min (A) e 3,69 min (B)), f – *o*-xileno (t_R = 4,14 min (A) e 4,09 min (B)). P. E / ° C: metanol – 65; Benzeno – 80; Tolueno – 110; Clorobenzeno – 132; Etilbenzeno – 136 e *o*-xileno – 144. [71]

¹ Ainda que o revestimento seja misto, constituído de uma dispersão de um adsorvente (DVB) em um polímero (PDMS), o mecanismo de extração é considerado preponderantemente como sendo adsorção [70]

Os primeiros ensaios foram realizados para uma solução contendo os cinco compostos aromáticos citados mais γ -terpineno, álcool benzílico e 1-octanol, afim de trabalhar com compostos de polaridades diferenciadas. Entretanto, em função da fibra inicialmente escolhida (PDMS) ser apolar, conseqüentemente, a eficiência de extração dos álcoois foi mínima ou desprezível e estes dois últimos compostos foram excluídos. Em estudos subsequentes, verificou-se que o γ -terpineno também deveria ser eliminado por seus dados apresentarem um alto valor de desvio padrão (em função da baixa solubilidade em água: não reprodutibilidade no preparo de solução).

5.1 Otimização do tempo de extração e do tempo de equilíbrio. As figuras 11 e 12 mostram os perfis de tempo de equilíbrio e tempo de extração para as fibras PDMS e PDMS-DVB, respectivamente, obtidos em 2c. Após inspeção destas curvas, adotaram-se para os ensaios subsequentes valores de 5 min para ambas etapas de todos os ensaios realizados com PDMS e 3 min de pré-equilíbrio e 10 min de extração para os ensaios com a fibra PDMS-DVB.

5.2 Otimização dos parâmetros operacionais para SPME-PSI. Para a avaliação dos resultados, em todas as etapas, definiu-se para cada analito avaliado, o incremento na área do pico cromatográfico I como:

$$I (\%) = \left(100 \times \frac{A_p}{A_c} \right) - 100 \quad (\text{equação 4})$$

onde A_p é a área média dos picos cromatográficos obtidos para um determinado analito com a utilização de programação pneumática eletrônica na etapa de

dessorção e A_c é a área média obtida para o mesmo analito em condições convencionais de dessorção (extraído nas mesmas condições), usada aqui como referência. Os dados convertidos em valores de incremento pela equação 1 foram inseridos no programa fatorial para obtenção dos valores de efeito.

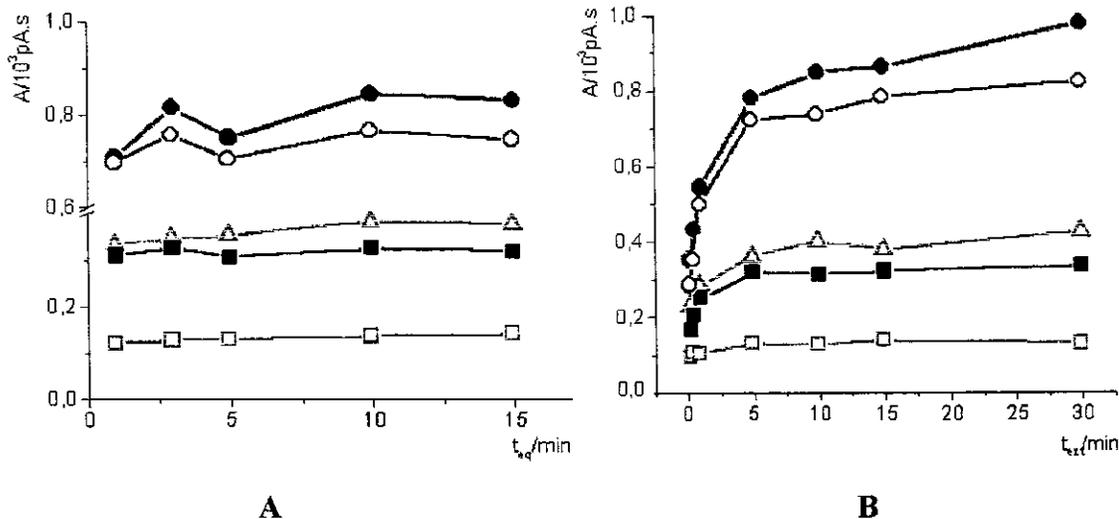


Figura 11. (A) Perfil de tempo de equilíbrio e (B) perfil de tempo de extração, para extração do *headspace* de uma solução estoque ($150 \mu\text{g L}^{-1}$ de cada analito teste) com a fibra PDMS: \square = Bz, Δ = Tol, \blacksquare = Clbz, \bullet = Etbz, \circ = X.

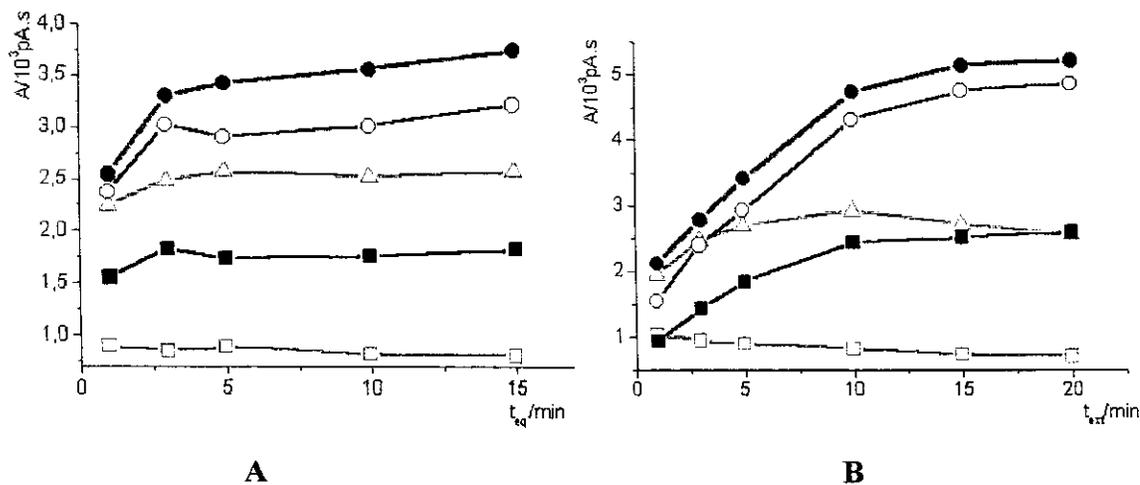


Figura 12. (A) Perfil de tempo de equilíbrio e (B) perfil de tempo de extração, para extração do *headspace* de uma solução estoque ($75 \mu\text{g L}^{-1}$ de cada analito teste) com a fibra PDMS-DVB: \square = Bz, Δ = Tol, \blacksquare = Clbz, \bullet = Etbz, \circ = X.

a. Otimização das variáveis: pressão de pulso (P), tempo de pulso (t_p) e tempo de dessorção (t_D) para PDMS. [67, 68]

A tabela 7 mostra os efeitos e as interações dos parâmetros de injeção com programação eletrônica obtidos pelo programa FATORIAL para os analitos benzeno (Bz), tolueno (Tol), clorobenzeno (Clbz), etilbenzeno (Etbz) e *o*-xileno (X).

Tabela 7. Efeitos dos parâmetro de injeção com programação de pressão sobre o sinal analítico (PDMS)^a

Efeito	Analitos				
	Bz	Tol	Clbz	Etbz	X
P	11,2	1,9	9,5	9,3	2,9
t_D	-7,0	-4,5	-7,0	-8,5	-4,4
t_p	9,3	-0,8	2,0	0,5	0,9
$P \times t_D$	-0,9	-0,4	-2,5	-2,7	-0,8
$P \times t_p$	17,9	7,2	6,0	8,5	4,0
$t_D \times t_p$	6,8	1,8	3,5	3,4	1,1
$P \times t_D \times t_p$	5,1	3,0	2,6	2,8	1,0

a. Níveis de P, t_p e t_D : (25 e 35 psi), (0,35 e 0,65 min) e (0,50 e 1,00 min), respectivamente.

Os dados da tabela acima sugerem que um aumento da pressão de pulso de 10 psi² gera um incremento no valor de áreas em relação a dessorção convencional para todos os analitos (sendo este efeito mais pronunciado para benzeno, clorobenzeno, etilbenzeno e *o*-xileno). O contrário ocorre para tempos de dessorção, que devem ser diminuídos em relação ao maior valor de tempo

² Os valores de pressão serão expressos em psi, por ser esta unidade convencional e muito usada na especificação e descrição de métodos de análise por GC.

adotado (1,0 min) para todos os analitos. O incremento da variável t_p parece ser significativo apenas para benzeno e clorobenzeno.

Os valores positivos para interações destes parâmetros ($P \times t_D$; $P \times t_p$, etc.) sugerem uma influência conjunta e simultânea dos mesmos sobre as áreas dos picos, assim como um comportamento diferenciado dos analitos em relação a estas variáveis, orientando os estudos para a divisão dos analitos em dois grupos para novos níveis a serem avaliados para o refino das condições operacionais (tabela 8): Grupo 1. benzeno, clorobenzeno e etilbenzeno e Grupo 2. etilbenzeno, *o*-xileno e tolueno, sendo que o etilbenzeno foi avaliado nos dois grupos por ter comportamento semelhante aos analitos do grupo 1 com relação a P e, aos do grupo 2, com relação a t_p .

Da comparação dos dados das tabelas anteriores, observa-se a necessidade de avaliar o que acontece com o sinal analítico quando P aumenta do nível 35 para 40 psi e com valores de t_D ainda menores (tabela 9). Valores superiores de P e t_p não foram estudados por limitações do equipamento (acima de 42 psi há dificuldade de estabilização da pressão). A tabela 9 apresenta os valores de incerteza necessários aqui para a determinação dos efeitos significativos.

Todos os resultados obtidos até aqui sugerem que, dependendo do analito e das variáveis adotadas, o uso de programação de pressão na injeção em SPME pode resultar em incremento nas áreas dos analitos extraídos. A tabela 9 traz a estimativa de erro sobre o valor do efeito, o que permite avaliar que os parâmetros t_D e t_p não são tão significativos para os analitos benzeno, clorobenzeno, etilbenzeno e *o*-xileno, respectivamente. Este resultado é coerente, uma vez que, para analitos mais voláteis o processo de dessorção da fibra de SPME para a coluna cromatográfica é rápido.

Através dos resultados da tabela 9 pôde-se estabelecer a região de provável máximo incremento do sinal analítico (ponto central) e então realizar

um estudo de deslocamento em torno deste ponto, refinando os resultados obtidos. Foram construídas superfícies de resposta, fixando-se t_D para os analitos mais voláteis (benzeno e clorobenzeno) e t_P para os isômeros *o*-xileno e etilbenzeno.

A tabela 10 apresenta a análise de variância (ANOVA) para os resultados obtidos. Os dados da tabela 10 mostraram que, a exceção do clorobenzeno, a variação total dos dados não é explicada satisfatoriamente por nenhum dos dois modelos linear ou quadrático.

Posteriormente, verificou-se que esta falta de ajuste não era consequência de falha dos modelos, e sim de um aspecto operacional do procedimento. Inicialmente, para calcular I eram feitas extrações de referência em condições não pulsadas no início e no fim do dia. O erro poderia estar relacionado a volatilidade dos analitos e, conseqüente perda, durante o dia de trabalho, mesmo sendo elas manipuladas cuidadosamente. Assim, os ensaios foram repetidos (tabela 11), comparando-se cada nova condição de injeção pulsada com uma injeção em condições convencionais executada imediatamente a seguir.

Eliminada a fonte de erro, nota-se através de comparações entre os valores de MQ_R/MQ_r com os valores de pontos de percentagem de distribuição e da variância explicada com o valor máximo explicado pelo modelo, um bom ajuste para os modelos linear e quadrático para etilbenzeno, *o*-xileno, benzeno e clorobenzeno, respectivamente. Com o grau de polinômio ajustado, obteve-se as equações que descrevem a superfícies de resposta para cada um dos analitos (figura 13).

Tabela 8. Efeitos dos parâmetros de injeção com programação de pressão (novos níveis avaliados) sobre as áreas dos picos dos analitos dos grupos 1 e 2 (PDMS)^a

Efeito	Grupo 1			Grupo 2		
	Bz	Clbz	Etbz	Etbz	X	Tol
P	4,9	5,12	3,4	4,7	2,9	-3,9
t _D	-2,9	-1,1	-0,8	-5,2	-3,0	-1,3
t _P	4,2	-2,1	-1,7	-10,9	-8,5	7,5
P × t _D	-2,5	-0,5	0,5	0,5	2,3	4,4
P × t _P	7,1	2,3	5,1	1,8	1,9	-7,0
t _D × t _P	2,9	0,5	1,4	4,6	1,6	-1,6
P × t _D × t _P	2,0	-1,7	-3,2	-1,2	-2,0	2,5

a. Níveis de P, t_P e t_D: **Grupo 1.** (15 e 25 psi), (0,65 e 0,95 min), (0,30 e 0,60 min) e **Grupo 2.** (15 e 25 psi), (0,35 e 0,65 min), (0,30 e 0,60 min).

Tabela 9. Valores dos efeitos dos parâmetros de injeção pulsada sobre a área dos picos e erro em % (PDMS)^a

Efeito	Analitos				
	Bz	Tol	Clbz	Etbz	X
P	7,5 ± 1,4	-0,8 ± 0,5	10,4 ± 0,2	10,8 ± 1,1	9,6 ± 1,2
t _D	-0,6 ± 1,4	-5,8 ± 0,5	0,7 ± 0,2	5,8 ± 1,1	4,5 ± 1,2
t _P	11,4 ± 1,4	1,3 ± 0,5	2,2 ± 0,2	-0,9 ± 1,1	2,3 ± 1,2
P × t _D	-4,7 ± 1,4	-1,3 ± 0,5	-1,5 ± 0,2	1,9 ± 1,1	2,9 ± 1,2
P × t _P	15,6 ± 1,4	-0,9 ± 0,5	3,4 ± 0,2	0,1 ± 1,1	3,3 ± 1,2
t _D × t _P	-7,8 ± 1,4	-1,8 ± 0,5	0,6 ± 0,2	-1,9 ± 1,1	-6,1 ± 1,2
P × t _D × t _P	-2,3 ± 1,4	-0,3 ± 0,5	-1,7 ± 0,2	-4,6 ± 1,1	-4,0 ± 1,2

a. Condições: P: 35 e 40 psi; t_D: 0,20 e 0,30 min e t_P: 0,35 e 0,65 min.

Tabela 10. Análise de variância para o ajuste dos modelos linear (l) e quadrático (q) para a fibra PDMS (todas injeções pulsadas comparadas a uma convencional/dia)

Analitos	Bz		Clbz		Etbz		X	
	l	q	l	q	l	q	l	q
v. e(%)	65,1	58,8	5,6	82,8	29,2	48,5	29,1	50,6
m v e (%)	88,0	96,7	91,6	94,5	95,8	98,9	24,7	88,0

v e = variância explicada; m v e = máxima variância explicada.

Tabela 11. Análise de variância para o ajuste dos modelos linear (l) e quadrático (q) para a fibra PDMS (cada injeção pulsada comparada a uma convencional)

Analitos	Bz		Clbz		Etbz		X	
	l	q	l	q	l	q	l	q
v. e(%)	43,1	88,7	23,5	82,8	91,0	57,9	82,7	19,7
m v e (%)	99,5	99,7	98,4	98,8	99,6	99,9	97,8	98,6
MQ_R/MQ_r	1,5	7,9	0,6	4,8	20,3	1,4	9,5	0,3
$F_{1, n-2}^a$	6,9	5,1	6,9	5,1	6,9	5,1	6,9	5,1
MQ_{faj}/MQ_{ep}	118,5	27,8	46,1	9,0	24,2	1602,0	7,1	37,4
$F_{1, n-2}^b$	19,0	19,2	19,0	19,2	19,0	19,2	19,0	19,2

v e = variância explicada; m v e = máxima variância explicada, MQ_R/MQ_r = média quadrática da regressão/média quadrática dos resíduos, MQ_{faj}/MQ_{ep} = média quadrática falta de ajuste/erro puro, $F_{1, n-2}$ = teste F; a. $F_{2,4}$ (l) e $F_{5,5}$ (q) e b. $F_{2,2} = 19,0$ (l) e $F_{3,2} = 19,2$ (q) [67]

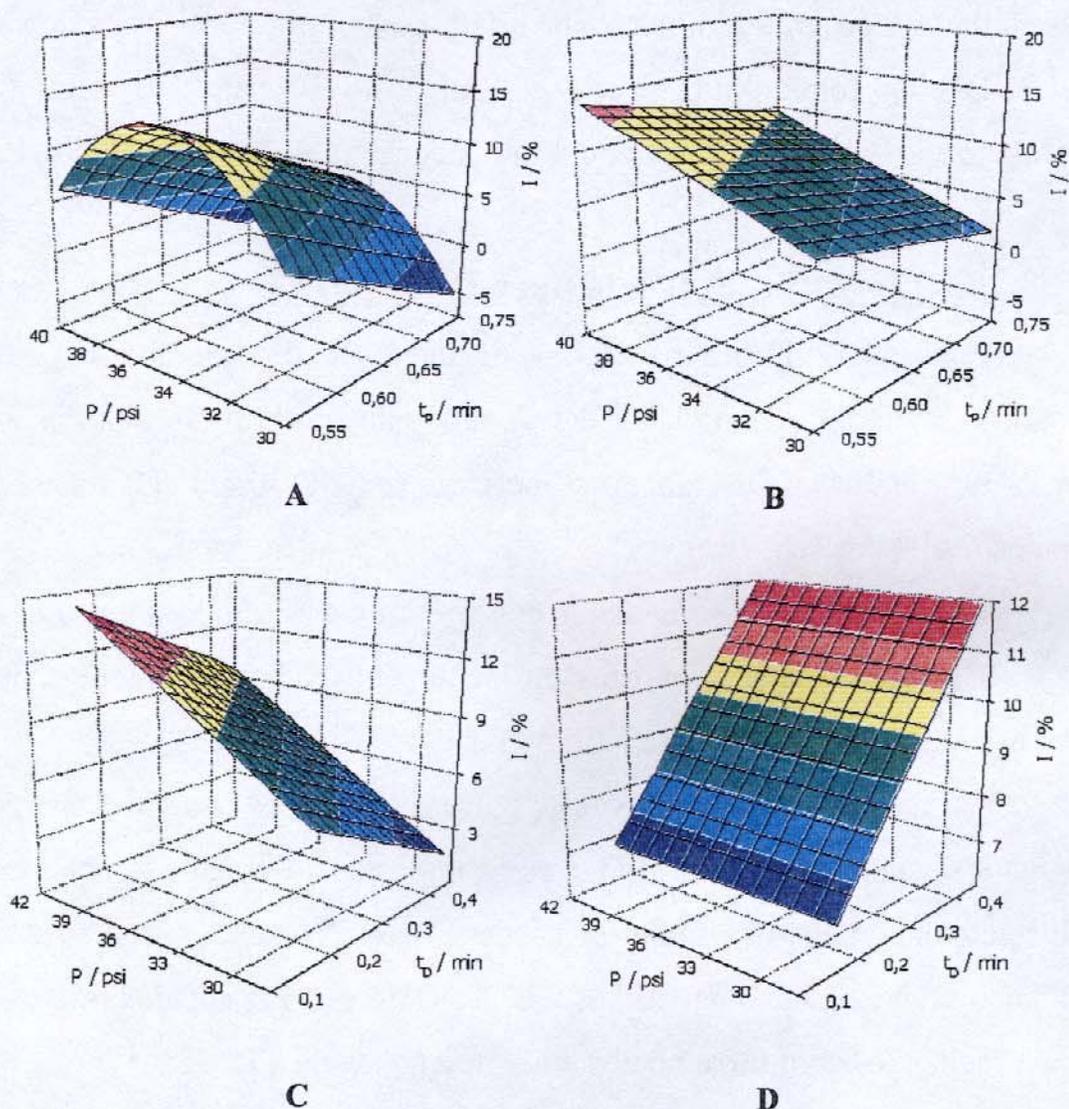


Figura 13. Superfícies de resposta (fibra PDMS): (A) Bz [$y = (9,2 \pm 3,9) - (4,7 \pm 2,4) P^2 - (3,6 \pm 2,9) t_p$]; (B) Clbz [$y = (5,2 \pm 3,3) + (3,9 \pm 2,9) P \cdot t_p$]; (C) Etbz [$y = (8,2 \pm 1,1) - (1,7 \pm 1,5) P + (2,9 \pm 1,5) t_p$]; (D) X [$y = (9,6 \pm 0,9) + (1,9 \pm 1,2) t_p$].

As superfícies para os isômeros etilbenzeno e *o*-xileno, como era de se esperar, são muito semelhantes. Já o clorobenzeno tem um comportamento muito diferenciado dos demais analitos em relação ao uso de SPME-PSI, provavelmente em função de ser o analito mais polar da série avaliada. Observa-se que, podem ser gerados incrementos no sinal analítico superiores a 15 %, apenas com o uso de dispositivos existentes nos cromatografos modernos que

possibilitam a programação eletrônica de pressão em SPME. Os valores ótimos de P , t_p e t_D foram: etilbenzeno e *o*-xileno – 30 psi; 0,65 min; 0,4 min, clorobenzeno – 40 psi; 0,75 min; 0,4 min e benzeno – 35 psi; 0,51 min, 0,30 min.

b. Otimização P , t_p e t_D para PDMS-DVB. [67, 68]

A tabela 12 ilustra os efeitos de interação dos parâmetros de injeção programada pelo programa FATORIAL referente aos mesmos analitos avaliados para a fibra PDMS. Os valores de incerteza (em %) foram calculados somente para os resultados significativos.

A princípio, pode-se concluir que o incremento no parâmetro t_D torna-se mais significativo para compostos de menor volatilidade, o que é concordante com os resultados obtidos para a fibra PDMS.

Já o incremento da variável t_p , para as condições avaliadas, parece gerar resultados similares para todos os compostos. Observa-se também que, principalmente para os isômeros *o*-xileno e etilbenzeno, torna-se necessário avaliar o efeito de maiores valores para P . Com estes resultados, novos ensaios foram realizados com incrementos em P , t_p e t_D (tabela 13).

Comparando-se estes resultados com a tabela 12, nota-se que o novo incremento nas variáveis t_p e t_D foram desfavoráveis e que, embora o incremento em P interfira significativamente no sinal do tolueno, os valores de interação para estas variáveis são baixos e/ou negativos. Um novo planejamento foi realizado para os mesmos valores de P , entretanto, para níveis menores de t_p e t_D (tabela 14).

Tabela 12. Efeitos dos parâmetros de injeção com programação de pressão sobre as áreas dos picos dos analitos avaliados e erro em % para a fibra PDMS-DVB^a

Efeito	Analitos				
	Bz	Tol	Clbz	Etbz	X
P	6,3 ± 0,9	1,8 ± 0,5	2,1 ± 1,2	-1,3 ± 2,4	0,2 ± 1,3
t _D	-0,2 ± 0,9	2,8 ± 0,5	2,9 ± 1,2	4,0 ± 2,4	5,2 ± 1,3
t _P	2,2 ± 0,9	0,3 ± 0,5	1,5 ± 1,2	1,9 ± 2,4	1,3 ± 1,3
P × t _D	-3,7 ± 0,9	0,4 ± 0,5	-2,4 ± 1,2	0,5 ± 2,4	0,7 ± 1,3
P × t _P	-3,2 ± 0,9	-0,3 ± 0,5	0,8 ± 1,2	1,3 ± 2,4	3,4 ± 1,3
t _D × t _P	2,6 ± 0,9	4,0 ± 0,5	3,8 ± 1,2	4,0 ± 2,4	6,4 ± 1,3
P × t _D × t _P	-4,2 ± 0,9	1,0 ± 0,5	1,3 ± 1,2	4,7 ± 2,4	3,1 ± 1,3

a. Níveis de P, t_P e t_D: (25 e 35 psi), (0,35 e 0,65 min) e (0,50 e 1,00 min).

Tabela 13. Efeitos dos parâmetros de injeção com programação de pressão (novos níveis avaliados) sobre as áreas dos picos dos analitos para a fibra PDMS-DVB^a

Efeito	Analitos				
	Bz	Tol	Clbz	Etbz	X
P	5,3	4,0	1,3	0,9	-1,5
t _D	-0,9	-3,0	-7,3	-9,9	-7,0
t _P	-4,0	-4,0	-7,4	-13,8	-8,0
P × t _D	-1,0	3,8	-0,2	1,4	-0,1
P × t _P	-7,0	-1,9	0,5	-2,3	-3,3
t _D × t _P	-2,0	1,7	2,9	1,5	1,0
P × t _D × t _P	-0,3	-2,2	-2,8	-0,9	-0,7

a. Níveis de P, t_P e t_D: (35 e 40 psi), (0,65 e 0,95 min) e (1,50 e 2,00 min).

Tabela 14. Valores dos efeitos dos parâmetros de injeção pulsada sobre as áreas dos picos e valores de erro em % para a fibra PDMS-DVB. ^a

Efeito	Analitos				
	Bz	Tol	Clbz	Etbz	X
P	2,0 ± 0,5	-0,9 ± 0,8	-0,7 ± 1,4	2,0 ± 1,1	3,0 ± 1,3
t _D	-1,7 ± 0,5	-1,2 ± 0,8	0,1 ± 1,4	-4,1 ± 1,1	-2,3 ± 1,3
t _P	-1,9 ± 0,5	-0,5 ± 0,8	1,0 ± 1,4	5,1 ± 1,1	4,3 ± 1,3
P × t _D	-2,3 ± 0,5	-4,1 ± 0,8	0,9 ± 1,4	0,7 ± 1,1	2,0 ± 1,3
P × t _P	-0,6 ± 0,5	-2,0 ± 0,8	1,6 ± 1,4	3,3 ± 1,1	2,1 ± 1,3
t _D × t _P	-3,6 ± 0,5	1,4 ± 0,8	0,4 ± 1,4	-4,2 ± 1,1	-3,5 ± 1,3
P × t _D × t _P	2,5 ± 0,5	3,1 ± 0,8	5,4 ± 1,4	2,4 ± 1,1	0,9 ± 1,3

a. Níveis de P, t_P e t_D: (35 e 40 psi), (0,35 e 0,65 min) e (1,00 e 1,50 min).

Dos dados das tabelas 12 e 14, conclui-se que o incremento da pressão de 35 psi para 40 psi é favorável somente para os isômeros etilbenzeno e *o*-xileno e que os menores valores obtidos para efeitos de interação, principalmente entre P, t_D e t_P, significam que a dessorção destes analitos é mais efetiva em torno de 1,00 min.

Ainda, da comparação dos dados com os valores de estimativa de erro sobre o valor do efeito observa-se que há uma influência da variável P para todos os analitos e, que as variáveis t_P e t_D tem interferências semelhantes para os isômeros *o*-xileno e etilbenzeno. Enquanto que os efeitos de t_P para benzeno e t_D para tolueno e clorobenzeno são mais significativos. A partir destas observações pôde-se definir o ponto central na região de P = 35 psi, t_D = 1,0 min e t_P = 0,65 min.

Como a construção de superfícies de resposta envolvendo três variáveis para etilbenzeno e *o*-xileno levaria a planejamentos muito complexos, optou-se

por fixar o valor de t_D para os isômeros e avaliar apenas P e t_D , uma vez que, em ensaios anteriores, observou-se que a variação do sinal analítico na região de 0,5 e 1,0 min é muito pequena, valores superiores são desfavoráveis e que avaliar o parâmetro t_p pode ser mais interessante pois este parâmetro altera não só o sinal analítico como o tempo de análise.

Para a fibra PDMS-DVB, assim como para PDMS, parece haver um comportamento diferenciado dos analitos em relação ao uso de PSI sendo a região central definida praticamente igual, exceto em relação ao tempo de dessorção dos analitos.

Os resultados da análise de variância estão ilustrados na tabela 15. Assim como para PDMS, verifica-se um bom ajuste com um modelo linear para etilbenzeno e *o*-xileno e de 2º grau para benzeno e clorobenzeno. Para o tolueno, diferentemente da PDMS, pôde-se definir um grau de ajuste para o modelo que descreve o comportamento do incremento no sinal analítico em função das variáveis avaliadas. Este ajuste é concordante com o definido para os analitos menos voláteis com a fibra PDMS-DVB. A partir das equações obtidas com os graus dos polinômios ajustados, desenharam-se as superfícies de resposta (figura 14) que descrevem o comportamento de cada um dos analitos para os parâmetros avaliados.

As superfícies obtidas para os isômeros com a fibra PDMS-DVB assemelham-se as obtidas para PDMS; maiores diferenças podem ser observadas para os analitos menos voláteis.

Tabela 15. Análise de variância para o ajuste dos modelos linear (l) e quadrático (q) para PDMS-DVB

Analitos	Bz		Tol		Clbz		Etbz		X	
	l	q	l	q	l	q	l	q	l	q
v. e (%)	48,8	92,5	3,5	90,6	7,0	73,9	92,8	51,2	80,6	29,9
m v e (%)	92,8	96,1	98,1	98,1	98,6	98,6	97,0	99,1	97,1	99,5
MQ_R/MQ_r	1,9	12,4	0,1	9,6	0,3	2,8	25,8	1,1	8,3	0,4
$F_{1, n-2}^a$	6,9	5,1	4,5	5,1	4,5	5,1	6,9	5,1	6,9	5,1
MQ_{faj}/MQ_{ep}	6,2	0,6	16,7	2,7	21,9	11,8	1,4	35,1	5,7	101,5
$F_{1, n-2}^b$	19,0	19,2	19,3	19,2	19,3	19,2	19,0	19,2	19,0	19,2

v e = variância explicada; m v e = máxima variância explicada, MQ_R/MQ_r = média quadrática da regressão/média quadrática dos resíduos, MQ_{faj}/MQ_{ep} = média quadrática falta de ajuste/erro puro, $F_{1, n-2}$ = teste F; a. $F_{4,5}$ (l) para Tol e Clbz e $F_{2,4}$ (l) para Bz, Etbz e X e $F_{5,5}$ (q) para todos os analitos e b. $F_{6,2} = 19,0$ (l) para Tol e Clbz e $F_{2,2}$ (q) para Bz, Etbz e X e $F_{3,2}$ (q) para todos os analitos. [67]

Os valores ótimos de P, t_p e t_D para PDMS-DVB foram: etilbenzeno e *o*-xileno – 30 psi; 0,75 min; 1,0 min, clorobenzeno – 35 psi; 0,65 min; 1,0 min tolueno – 35 psi; 0,65 min; 1,0 min e benzeno – 30 psi; 0,55 min, 1,0 min.

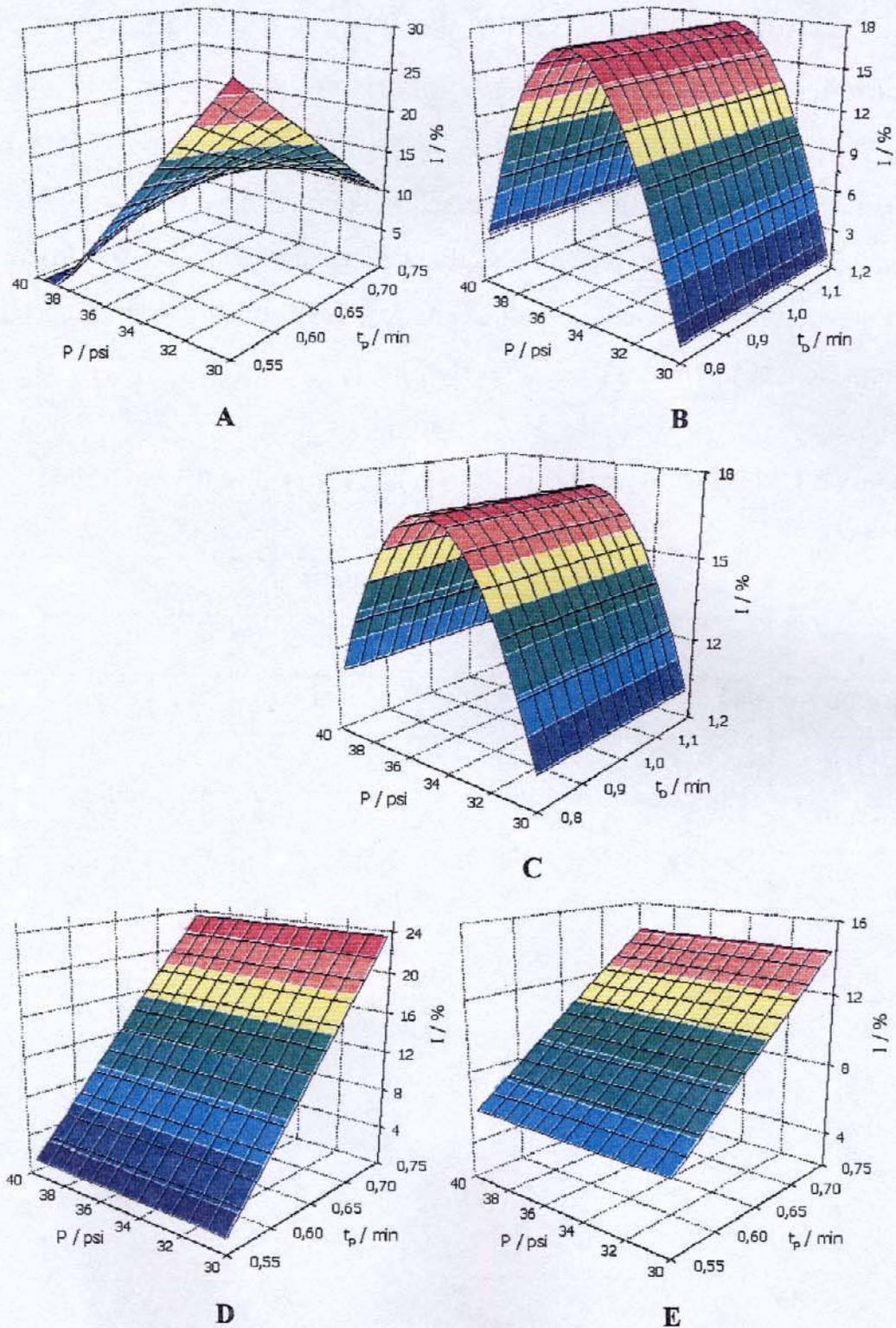


Figura 14. Superfícies de resposta (fibra PDMS-DVB): (A) $Bz [y = (11,9 \pm 3,6) - (5,0 \pm 2,2)P + (4,7 \pm 3,1P \cdot t_p)]$; (B) $Tol [y = (17,7 \pm 4,3) - (8,3 \pm 3,2)P^2]$; (C) $Clbz [y = (17,2 \pm 3,5) - (3,5 \pm 2,0)P^2]$; (D) $Etbz [(y = 13,1 \pm 2,5) + (8,1 \pm 3,3)t_p]$; (E) $X [(10,4 \pm 1,9) + (3,1 \pm 2,4)t_p]$.

5.3 Estudo univariado da temperatura de dessorção (nas condições otimizadas na etapa anterior).

Com os parâmetros de PSI (P , t_D e t_P) otimizados para PDMS e PDMS-DVB (tabela 16), foi feita uma avaliação adicional do efeito da temperatura de dessorção, para fins de conferência. Para facilitar a visualização dos resultados, adotou-se como referência no cálculo de I , a área obtida na dessorção do analito em relação a temperatura de 250°C (figura 15).

Tabela 16. Condições otimizadas de P , t_P e t_D para as duas fibras: PDMS-DVB (1) e PDMS (2)

Parâmetro	Analitos									
	Bz		Tol		Clbz		Etbz		X	
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
P/psi	30	35	35	-	35	40	30	30	30	30
t_D /min	1,0	0,3	1,0	-	1,0	0,3	1,0	0,4	1,0	0,4
t_P /min	0,55	0,51	0,65	-	0,65	0,75	0,75	0,65	0,75	0,65

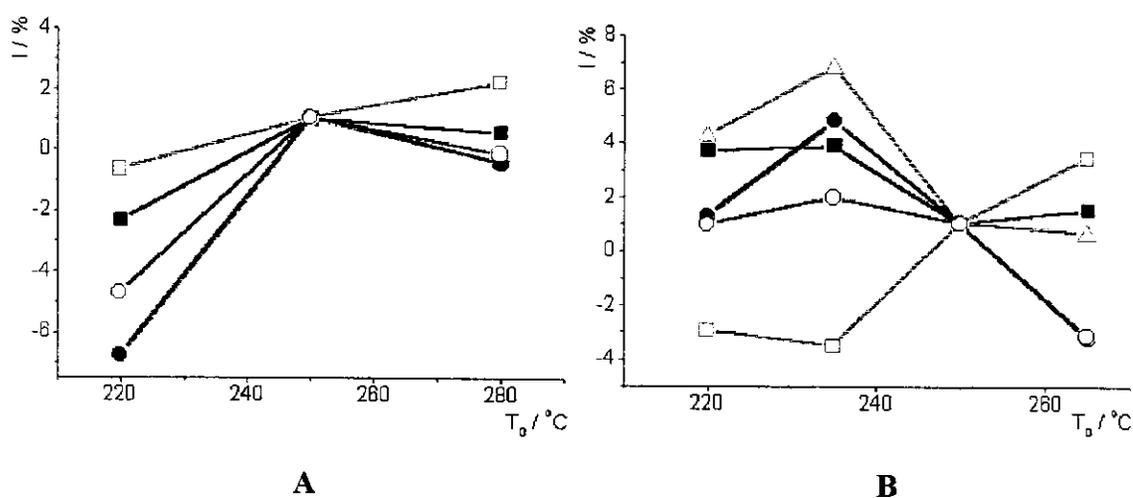


Figura 15. Efeito da temperatura de dessorção (T_D) sobre a área do pico cromatográfico: (A) PDMS e (B) PDMS-DVB; \square = Bz, Δ = Tol, \blacksquare = Clbz, \bullet = Etbz, \circ = X.

Em relação aos valores de desvio-padrão relativo para as replicatas (cerca de 8%), conclui-se que o efeito da temperatura de dessorção não é significativo na utilização de PSI. De acordo com o comportamento das curvas, para as próximas etapas foram adotados os valores de 250 e 240°C para a dessorção dos analitos das fibras PDMS e PDMS-DVB, respectivamente.

5.4 Estudo univariado da vazão de gás de arraste na coluna e temperatura inicial da coluna.

Os gráficos da figura 16 mostram os resultados da variação da vazão do gás de arraste na coluna (F) para dois níveis de temperatura inicial da coluna (T_C) com o uso de SPME-PSI para as duas fibras avaliadas com os níveis de P , t_D e t_P otimizados.

Pode-se dizer que, de uma maneira geral, todos os analitos avaliados apresentam um comportamento semelhante com relação ao incremento de F e T_C para as duas fibras avaliadas, adotando-se os valores de 2, 0 mL min⁻¹ e 70°C para as etapas seguintes (exceto para Clb que $T_C = 40^\circ\text{C}$ para PDMS).

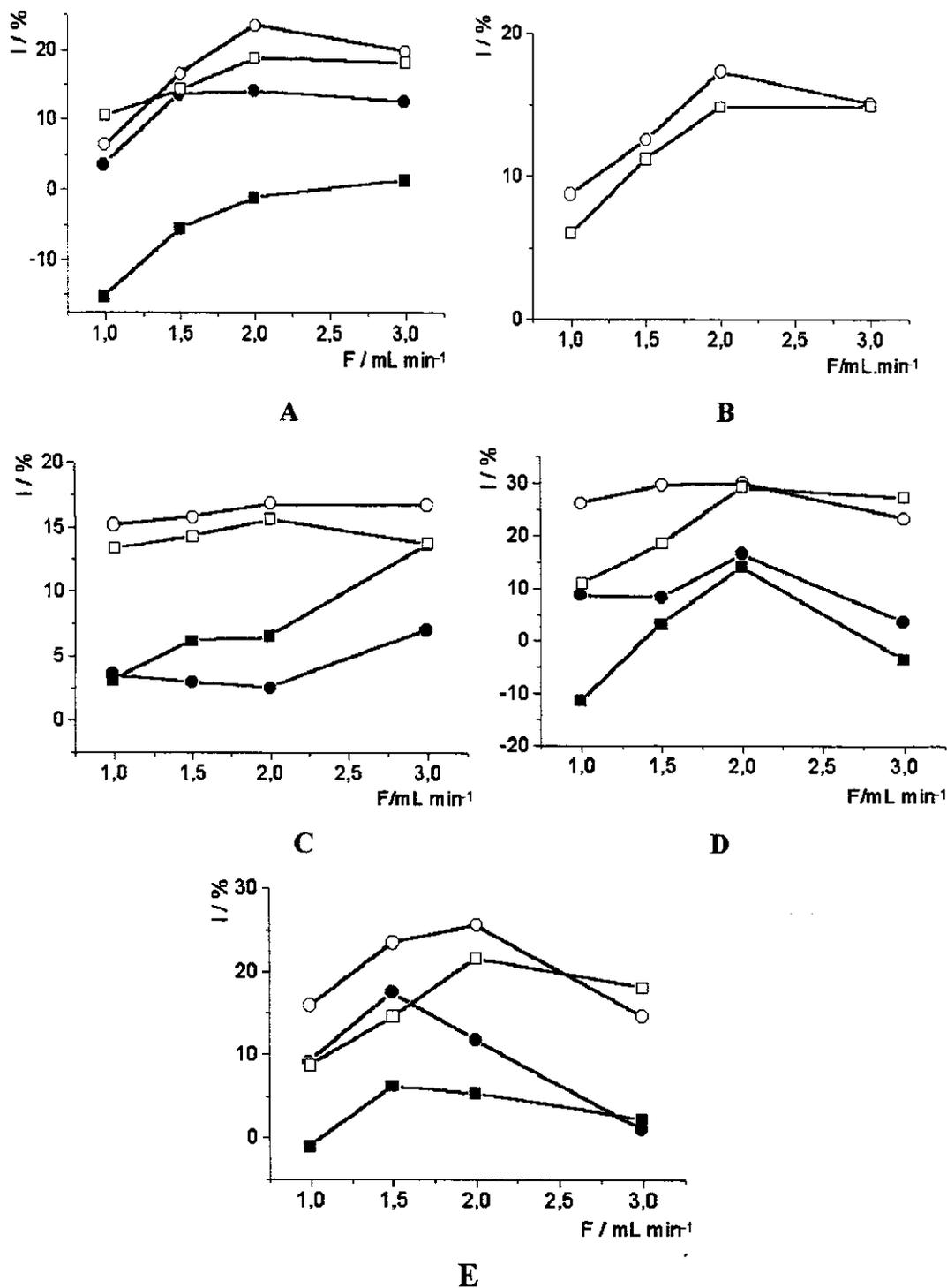


Figura 16. Estudo dos efeitos da vazão na coluna e temperatura inicial da coluna para as condições de P , t_P e t_D otimizadas para: (A) benzeno, (B) tolueno, (C) clorobenzeno, (D) etilbenzeno e (E) *o*-xileno. ○ = PDMS-DVB (70°C), □ = PDMS-DVB (40°C), ● = PDMS (70°C), ■ = PDMS (40°C)

A tabela 17 compara todos os parâmetros de PSI otimizados para as duas fibras avaliadas.

Tabela 17. Condições otimizadas para SPME-GC com injetores de controle eletrônico para as duas fibras: PDMS-DVB (1) e PDMS (2)

Parâmetro	Analitos									
	Bz		Tol		Clbz		Etbz		X	
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
P/psi	30	35	35	-	35	40	30	30	30	30
t_D /min	1,0	0,3	1,0	-	1,0	0,3	1,0	0,4	1,0	0,4
t_p /min	0,55	0,51	0,65	-	0,65	0,75	0,75	0,65	0,75	0,65
T_D /°C	240	250	240	-	240	250	240	250	240	250
T_C /°C	70	70	70	70	70	40	70	70	70	70
F/mL min ⁻¹	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	3,0	2,0	2,0	2,0	2,0

Dos dados da tabela 17, observa-se que, para a fibra PDMS-DVB, o t_D otimizado tem o mesmo valor para todos os analitos, valor este superior ao obtido para a fibra PDMS e, incrementos em t_p são necessários para analitos mais voláteis. O mesmo efeito também pode ser notado para PDMS, uma vez que os resultados obtidos para clorobenzeno a 0,65 e 0,75 min foram semelhantes. Nota-se também que os valores de t_p otimizados para as duas fibras são semelhantes.

Com relação a P, a exceção dos isômeros, o incremento do sinal ocorre para valores menores que os otimizados para PDMS. As variáveis otimizadas para temperatura de dessorção, vazão na coluna, e temperatura inicial da coluna, a exceção do clorobenzeno, foram semelhantes para as fibras PDMS e PDMS-DVB.

5.5 Construção de Curvas Analíticas.

Curvas analíticas para os analitos teste (na faixa de 60 – 400 $\mu\text{g L}^{-1}$ para PDMS e 30 – 200 $\mu\text{g L}^{-1}$ para PDMS-DVB) foram construídas com injeções nas condições otimizadas para SPME-PSI (tabela 17) para avaliação de parâmetros como linearidade, limite de detecção e sensibilidade para as metodologias desenvolvidas para as duas fibras (tabelas 18 e 19).

A integração dos picos cromatográficos em todas as etapas do trabalho foi realizada pelo software da HP, entretanto, para avaliar o efeito da cauda gerada na dessorção pulsada com a fibra PDMS foi realizada também a integração manual do pico cromatográfico (tabela 20). Para esta última, aplicou-se o conceito de *SMA (Start to Maximum Area)* [72], onde a área é calculada do início ao máximo de um pico e, neste caso, somente da fração não assimétrica.

Os dados da tabela 20 mostram que, para as duas metodologias, os valores de inclinação praticamente se igualaram. Estes resultados confirmam que para a fibra PDMS, algum material ficaria retido na fibra ou no *liner* do injetor sendo arrastado para a coluna cromatográfica na aplicação do pulso, eluindo depois do material dessorvido rapidamente gerando uma cauda. Como o método de integração por *SMA* considera apenas a metade do pico cromatográfico, pressupõe-se um pico simétrico, a área gerada correspondente a esta cauda não foi considerada nos cálculos.

Tabela 18. Valores de coeficiente de ajuste: a = inclinação da curva; b= intercepto, coeficiente de correlação r e coeficiente de correlação entre valores de áreas obtidos com injeções convencional e pulsada r (C x P), para as curvas analíticas A= aConc + b (A = área, Conc = concentração em $\mu\text{g L}^{-1}$) obtidas para a fibra PDMS. LD = Limite de Detecção e LQ = Limite de Quantificação

Analito	Pulsada ^a					Convencional					r (C x P)
	a	b	r	LD ^b	LQ ^b	a	b	r	LD ^b	LQ ^b	
Bz ¹	0,88	0,01	0,998	19	64	0,77	-0,24	0,993	38	128	0,997
Cibz ²	2,23	8,20	0,995	31	104	1,90	20,86	0,996	28	92	0,998
Etbz ³	6,90	-25,57	0,995	30	101	6,09	10,00	0,997	24	79	0,999
X ⁴	6,42	-59,66	0,995	31	105	5,68	-26,92	0,999	15	48	0,999

a. valores de P / psi; t_p / min; t_D / min; T_D / °C; F / mL min⁻¹, otimizados para cada analito: **1.** 30; 0,51; 0,30; 70; 2,0, **2.** 40; 0,75; 0,30; 40; 3,0, **3.** e **4.** 30; 0,65; 0,40; 70; 2,0. b. em $\mu\text{g L}^{-1}$ (valores calculados estatisticamente pelas relações: LD = 3 x dp (b) / a e LQ = 10 x dp (b) / a.

Tabela 19. Valores de coeficiente de ajuste para as curvas analíticas A= aConc + b obtidas para PDMS-DVB

Analito	Pulsada ^a					Convencional					r (C x P)
	a	b	r	LD ^b	LQ ^b	a	b	r	LD ^b	LQ ^b	
Bz ¹	3,03	306,04	0,995	17	55	2,47	283,97	0,991	21	70	0,999
Tol ²	16,46	1393,25	0,990	22	72	14,55	1187,64	0,991	22	72	0,997
Cibz ³	16,48	641,98	0,994	17	58	14,32	508,98	0,992	19	64	0,997
Etbz ⁴	41,59	620,41	0,995	15	51	34,72	591,98	0,992	18	61	0,999
X ⁵	37,85	507,08	0,995	15	49	33,59	415,21	0,994	16	54	0,997

a. P / psi; t_p / min; t_D / min: **1.** 30; 0,55; 1,00, **2** e **3.** 35; 0,65; 1,00, **4** e **5.** 30; 0,75; 1,00 e T_D e T_C / °C e F / mL min⁻¹: 240; 70; 2,0 para todos os analitos e b. em $\mu\text{g L}^{-1}$

Tabela 20. Valores de coeficiente de ajuste obtidos por integração manual do pico cromatográfico (PDMS) ^a

Analitos	Pulsada			Convencional			r (C x P)
	a	b	r	a	b	r	
Bz ¹	0,55	0,51	0,997	0,55	1,03	0,999	0,998
Clbz ²	1,62	-3,82	0,998	1,54	-27,78	0,998	0,998
Etbz ³	4,13	-37,44	0,999	4,12	11,82	0,999	0,999
X ⁴	4,22	-79,29	0,999	4,15	-21,04	0,999	0,997

a. valores de P/psi; t_p/min; t_D/min; T_D/°C; F/mL min⁻¹, otimizados para cada analito: **1.** 30; 0,51; 0,30; 70; 2.0, **2.** 40; 0,75; 0,30; 40; 2.0, **3.** e **4.** 30; 0,65; 0,40; 70; 2,0.

Observando-se os dados das tabelas 18 e 19, de um modo geral, nota-se que os valores de inclinação são maiores quando se utiliza a programação eletrônica de injeção para SPME, confirmando que com o uso desta programação há um ganho em sensibilidade. As correlações obtidas para o método de injeção pulsada são tão adequadas para fins analíticos e próximas aos valores obtidos para injeção convencional, o que indica precisão equivalente. Os coeficientes de correlação entre os vetores de áreas obtidos com os dois métodos são próximos da unidade; pode-se assim afirmar que as áreas obtidas pelo método com pulso são representativas daquelas obtidas convencionalmente, e que possíveis desvios da linearidade são oriundos de outra fonte (ex. preparo de soluções).

Embora os valores de limites de detecção e quantificação sejam semelhantes para as duas metodologias, há um ganho médio, de 13-17% para PDMS e 12-22% para PDMS-DVB, em sensibilidade (inclinação da curva padrão) com a utilização de programação eletrônica de pressão.

Observa-se ainda nas figura 17 a 22 (que ilustram os cromatogramas nas condições de dessorção convencional e pulsada para as fibras PDMS e PDMS-DVB, respectivamente), que há uma diminuição no tempo de análise para

SPME-PSI para as duas fibras avaliadas. Entretanto, para PDMS-DVB, o incremento no sinal analítico é gerado sem a ocorrência de cauda observada para PDMS, indicando que a metodologia proposta é adequada para a fibra PDMS-DVB.

Este efeito pode ser melhor ilustrado com a ampliação do pico cromatográfico de um dos analitos da série avaliada, neste caso ampliou-se o pico do etilbenzeno (figuras 23 e 24). Para melhor comparação, o pico cromatográfico deste composto obtido para a metodologia pulsada foi sobreposto ao pico gerado por dessorção convencional (figura 25).

Além deste efeito, foram observados incrementos em sensibilidade para o tolueno, o que não ocorria para PDMS. Estas diferenças observadas para a aplicação de programação eletrônica de pressão com a fibra PDMS-DVB e PDMS podem ser atribuídas as diferenças de mecanismos de dessorção dos analitos: adsorção para a primeira e partição para a última. [5]

Tanto o incremento em área como o menor tempo de análise observados para a metodologia desenvolvida para SPME-PSI podem ser explicados pelo fato que a aplicação de um pulso de pressão faz com que os analitos sejam transferidos mais rapidamente da fibra para a coluna cromatográfica, reduzindo o contato com os sítios ativos do injetor que podem causar a decomposição da amostra ou sua adsorção. [14] O fato das interações com os sítios ativos do injetor estarem associados as propriedades fisico-químicas dos analitos, aliado as diferenças de massas moleculares de cada analito e diferentes difusibilidades, explicam o comportamento diferenciado destes com relação aos parâmetros de injeção pulsada, principalmente P e t_p .

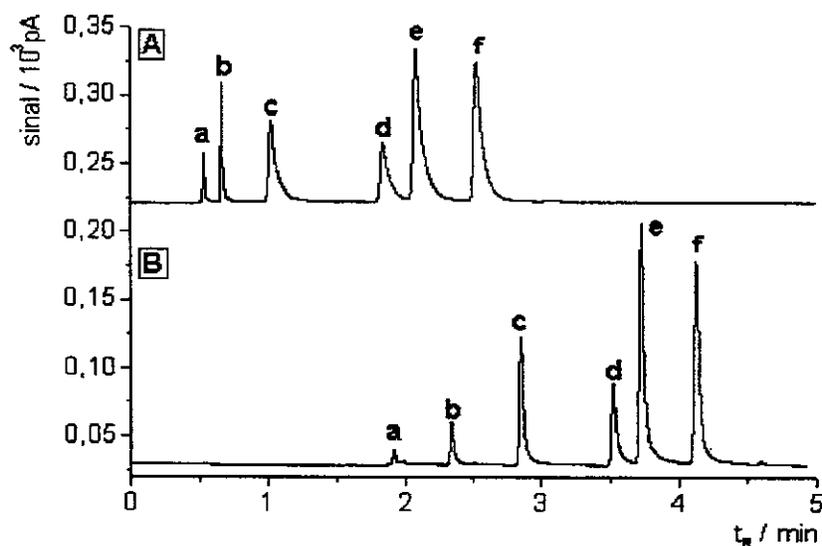


Figura 17. Cromatogramas (PDMS): (A) Dessorção com pulso otimizada para os isômeros ($P = 30$ psi; $t_P = 0,65$ min; $t_D = 0,40$ min; $T_D = 250^\circ\text{C}$; $T_C = 70^\circ\text{C}$ e $F = 2,0$ mL min^{-1}); a = metanol ($t_R = 0,529$), b = benzeno ($t_R = 0,661$), c = tolueno ($t_R = 1,025$), d = clorobenzeno ($t_R = 1,837$), e = etilbenzeno ($t_R = 2,076$) e f = *o*-xileno ($t_R = 2,526$) (B) dessorção convencional. a ($t_R = 1,912$), b ($t_R = 2,329$), c ($t_R = 2,845$), d ($t_R = 3,505$), e ($t_R = 3,708$) e f ($t_R = 4,108$).

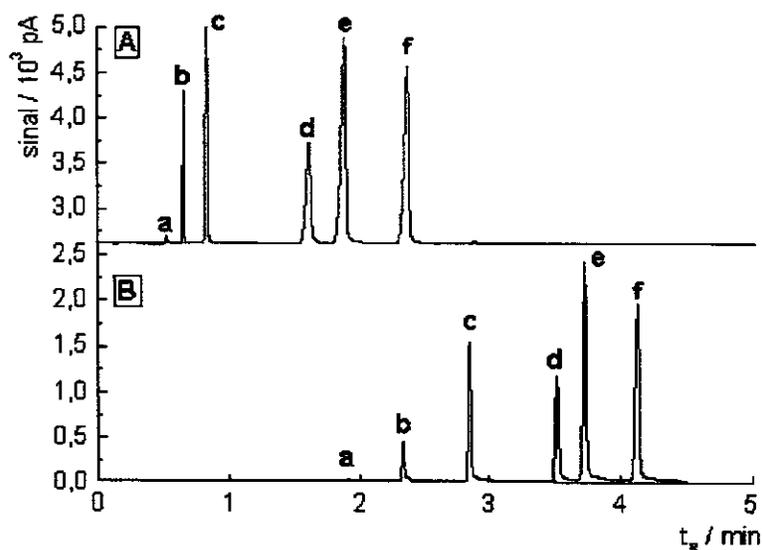


Figura 18. Cromatogramas (PDMS-DVB): (A) Dessorção com pulso otimizada para os isômeros ($P = 30$ psi; $t_P = 0,75$ min; $t_D = 1,00$ min; $T_D = 240^\circ\text{C}$; $T_C = 70^\circ\text{C}$ e $F = 2,0$ mL min^{-1}); a ($t_R = 0,536$), b ($t_R = 0,661$), c ($t_R = 0,838$), d ($t_R = 1,833$), e ($t_R = 2,176$) e f ($t_R = 2,771$) (B) dessorção convencional. a ($t_R = 1,934$), b ($t_R = 2,340$), c ($t_R = 2,857$), d ($t_R = 3,517$), e ($t_R = 3,727$) e f ($t_R = 4,128$).

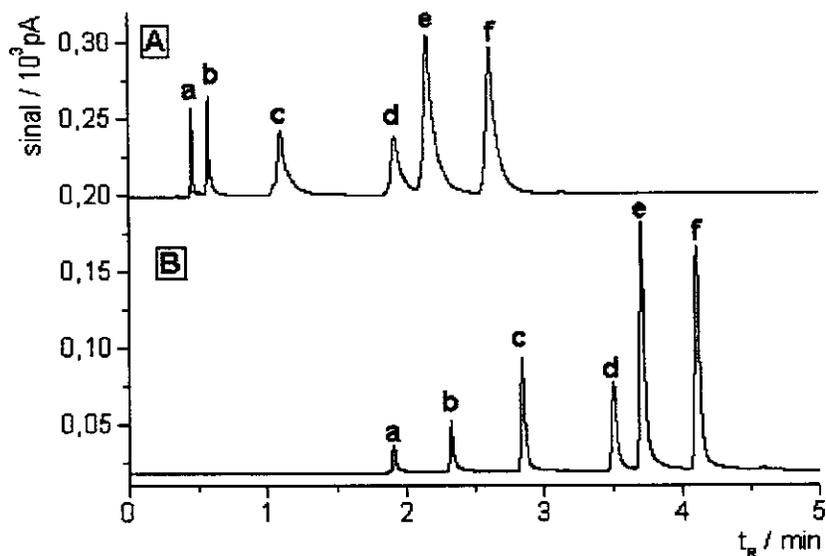


Figura 19. Cromatogramas (PDMS): (A) dessorção com pulso otimizada para o benzeno ($P = 35$ psi; $t_P = 0,51$ min; $t_D = 0,30$ min; $T_D = 250^\circ\text{C}$; $T_C = 70^\circ\text{C}$ e $F = 2,0$ mL min^{-1}); a = metanol, b = benzeno, c = tolueno, d = clorobenzeno, e = etilbenzeno e f = *o*-xileno. (B) dessorção convencional. Para o benzeno, A. $t_R = 0,578$ min e B. $t_R = 2,334$ min.

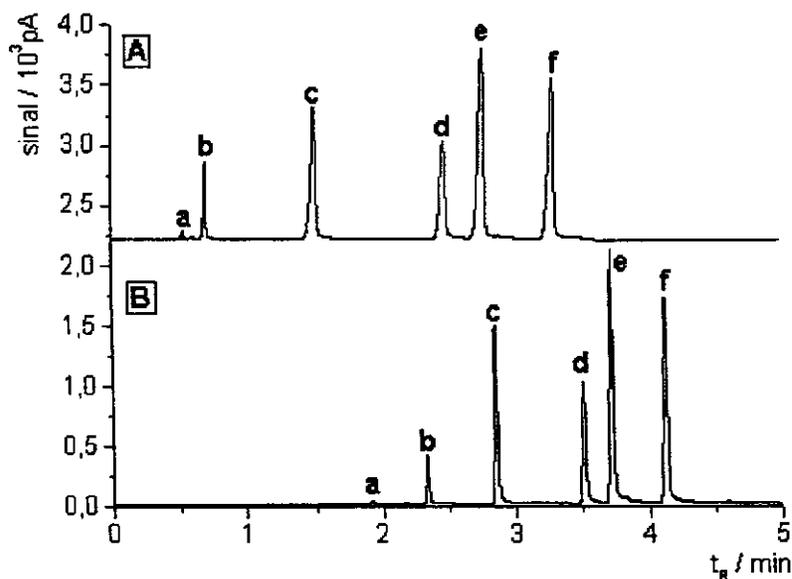


Figura 20. Cromatogramas (PDMS-DVB): (A) dessorção com pulso otimizada para o benzeno ($P = 30$ psi; $t_P = 0,55$ min; $t_D = 1,00$ min; $T_D = 240^\circ\text{C}$; $T_C = 70^\circ\text{C}$ e $F = 2,0$ mL min^{-1}); a = metanol, b = benzeno, c = tolueno, d = clorobenzeno, e = etilbenzeno e f = *o*-xileno. (B) dessorção convencional. Para o benzeno, A. $t_R = 0,703$ min e B. $t_R = 2,337$ min.

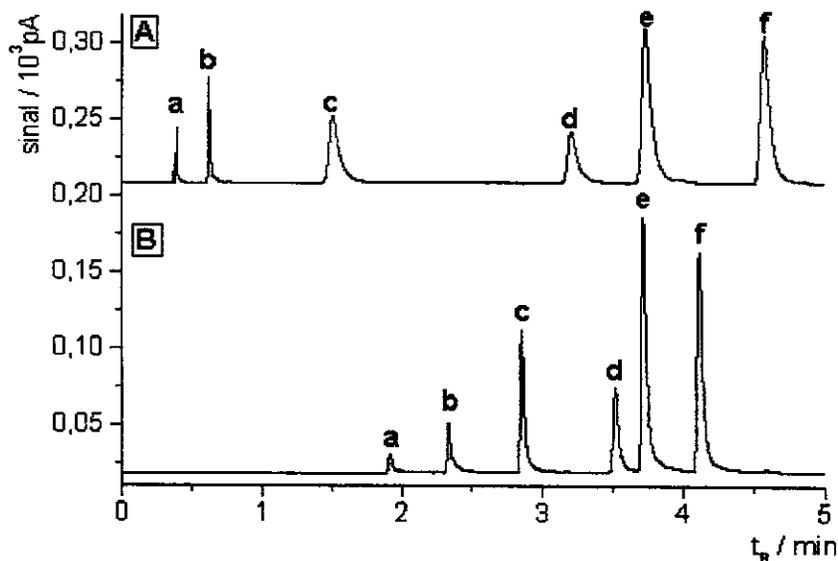


Figura 21. Cromatogramas (PDMS): (A) dessorção com pulso otimizada para clorobenzeno ($P = 40$ psi; $t_P = 0,75$ min; $t_D = 0,40$ min; $T_D = 250^\circ\text{C}$; $T_C = 40^\circ\text{C}$ e $F = 3,0$ mL min^{-1}); a = metanol, b = benzeno, c = tolueno, d = clorobenzeno, e = etilbenzeno e f = *o*-xileno. (B) dessorção convencional. Para o clorobenzeno, A. $t_R = 3,199$ min e B. $t_R = 3,509$ min.

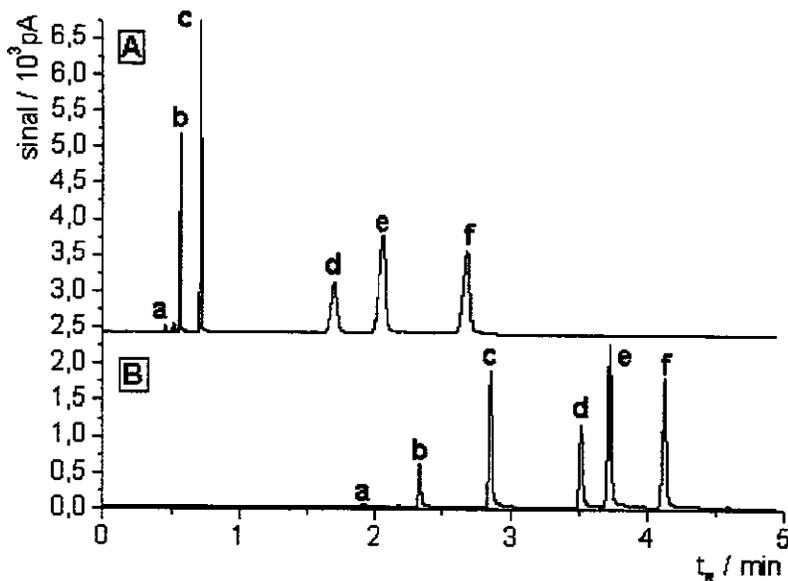


Figura 22. Cromatogramas (PDMS-DVB): (A) dessorção com pulso otimizada para tolueno e clorobenzeno ($P = 35$ psi; $t_P = 0,65$ min; $t_D = 1,00$ min; $T_D = 240^\circ\text{C}$; $T_C = 70^\circ\text{C}$ e $F = 2,0$ mL min^{-1}); a = metanol, b = benzeno, c = tolueno, d = clorobenzeno, e = etilbenzeno e f = *o*-xileno. (B) dessorção convencional. A. c. ($t_R = 0,723$ min) e d. ($t_R = 1,729$ min) e B. c. ($t_R = 2,855$ min) e d. ($t_R = 3,516$ min).

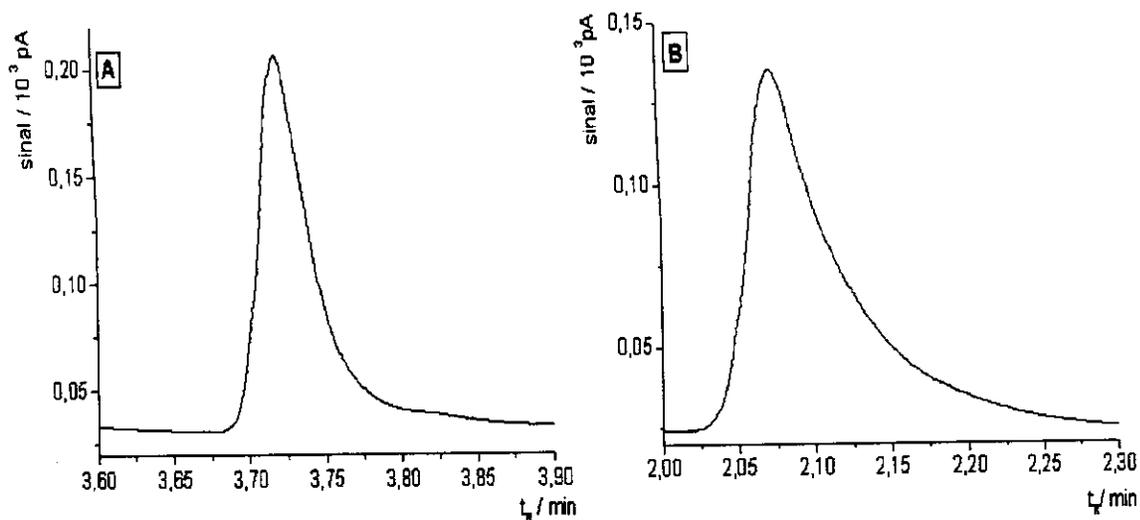


Figura 23. Ampliação do pico do etilbenzeno (fibra PDMS). (A) Dessorção convencional e (B) Dessorção com pulso nas condições otimizadas.

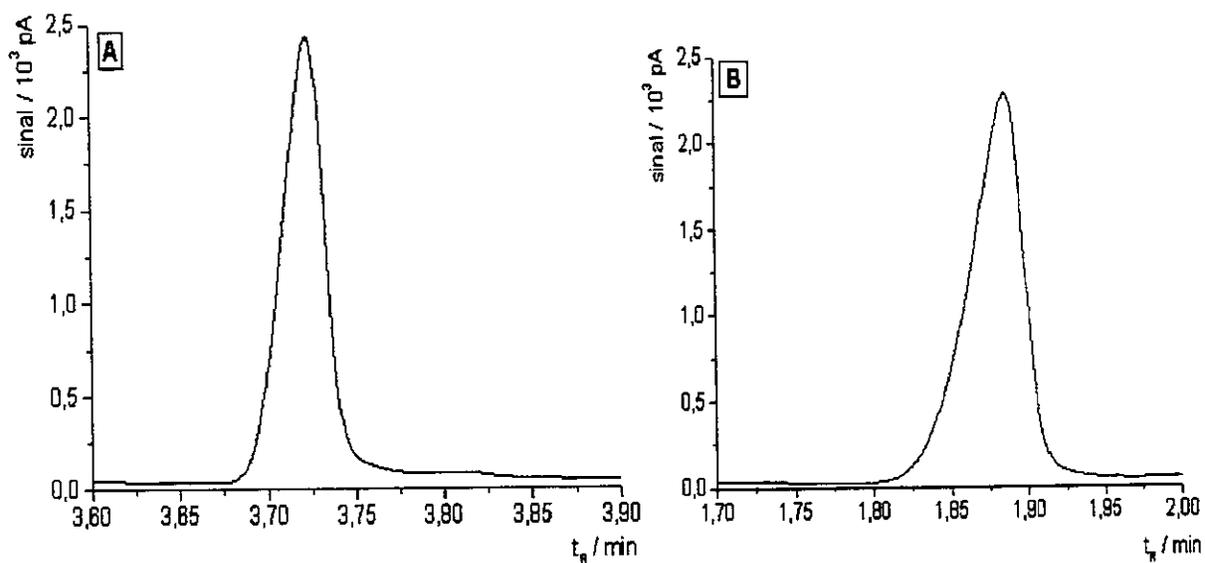


Figura 24. Ampliação do pico do etilbenzeno (fibra PDMS-DVB). (A) Dessorção convencional e (B) Dessorção com pulso nas condições otimizadas.

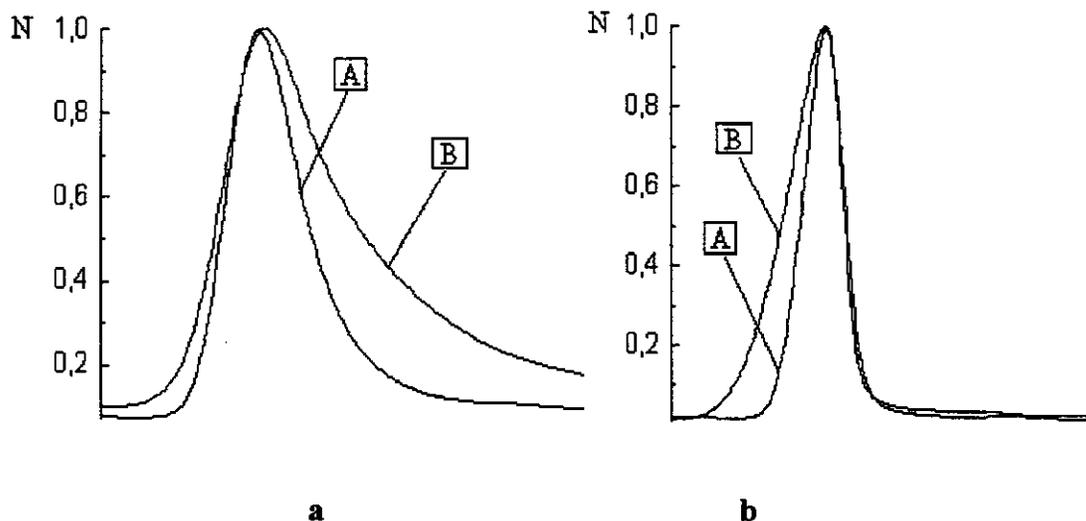


Figura 25. Comparação dos picos cromatográficos do etilbenzeno: (A) dessorção convencional e (B) dessorção pulsada nas condições otimizadas de P em psi, t_p e t_d em min, T_C e T_D em $^{\circ}C$ e F em $mL\ min^{-1}$ para (a) PDMS = 30; 0,65; 70; 250 e 2,0. e (b) PDMS-DVB = 30; 0,75; 1,0; 70; 240 e 2,0. N = sinal normalizado = sinal dividido pelo máximo valor do sinal.

Com as condições otimizadas para cada analito (tabela 17), calcularam-se alguns parâmetros que expressam a qualidade de separação (tabelas 24 e 22). Nota-se claramente que, a dessorção pulsada dos analitos da fibra PDMS-DVB gera menor alargamento de pico, maior valor para número de pratos e, conseqüentemente, menor altura relativa a um prato, em relação a dessorção convencional. Embora para esta fibra ocorra menor discrepância entre os valores de N para a metodologia pulsada e a convencional, em relação a fibra PDMS, observa-se que para a metodologia convencional o número de pratos é cerca de três vezes superior. Este fato pode ser explicado, uma vez que o alargamento do pico cromatográfico para a fibra PDMS-DVB é superior a metodologia convencional em função da cauda frontal (saturação da coluna), assim como menores valores de tempo de retenção ajustado foram obtidos.

Tabela 21. Cálculo de alguns parâmetros que expressam a qualidade de separação para a fibra PDMS, t_R = tempo de retenção, W_b = largura base do pico (entre as tangentes traçadas do ponto de inflexão nas laterais do pico), N = número de pratos teóricos ($N = 16 \times (t_R'/W_b)^2$) e H = altura equivalente a um prato ($H = L/N$)^a; $t_R' = t_R - t_M$; 1 = dessorção com pulso e 2 = dessorção convencional [73]

	t_R' / min		W_b / min		N		H/cm	
	1	2	1	2	1	2	1	2
Bz	0,115	0,419	0,016	0,027	786,7	3741,5	3,813	0,801
Tol	-	-	-	-	-	-	-	-
Clbz	2,806	1,282	0,069	0,037	26537,3	29303,6	0,113	0,102
Etbz	1,547	1,796	0,069	0,043	10461,4	27912,3	0,287	0,107
X	2,196	1,997	0,067	0,045	14129,9	38103,4	0,212	0,079

a. L = comprimento da coluna cromatográfica = 30 metros; t_M = tempo de retenção do solvente (metanol).

Tabela 22. Cálculo de alguns parâmetros que expressam a qualidade de separação para a fibra PDMS-DVB^a

	t_R / min		W_b / min		N		H/cm	
	1	2	1	2	1	2	1	2
Bz	0,173	0,417	0,017	0,024	1581,7	5038,0	1,897	0,595
Tol	0,262	0,935	0,011	0,028	8755,6	18098,9	0,343	0,166
Clbz	1,265	1,596	0,052	0,028	9767,0	53116,1	0,307	0,056
Etbz	1,640	1,797	0,046	0,028	19988,1	61014,1	0,150	0,049
X	2,240	2,200	0,046	0,034	37607,4	66867,9	0,080	0,045

a. L = comprimento da coluna cromatográfica = 30 metros.

5.6 Aplicação das metodologias desenvolvidas para PDMS e PDMS-DVB a amostras reais. Em função da composição da solução teste avaliada, optou-se por aplicar a metodologia desenvolvida a amostras de água contaminadas com gasolina para PDMS e óleo diesel para PDMS-DVB. Foram

construídas curvas analíticas de 0 - 430 $\mu\text{g L}^{-1}$ para PDMS e 0 - 200 $\mu\text{g L}^{-1}$ para PDMS-DVB.

Os hidrocarbonetos aromáticos apresentam um alto potencial de contaminação devido a sua concentração relativamente alta em combustíveis e grande solubilidade em água na presença de etanol. [69]

Portanto, a metodologia desenvolvida para a fibra PDMS (tabela 17) foi aplicada na quantificação de aromáticos em amostras de água contaminadas com gasolina. Os resultados estão nas tabelas 23 e 24 e um cromatograma representativo das amostras de água contaminadas com gasolina é mostrado na figura 26.

Ambas as metodologias de dessorção (pulsada e convencional) foram aplicadas para benzeno e *o*-xileno (analitos detectados nas amostras nas condições cromatográficas otimizadas). Nestas condições não há total separação do etilbenzeno com um possível isômero (e), ocorrendo sobreposição da cauda gerada com a aplicação do pulso. Para o tolueno, não há significativa diferença no sinal analítico com o uso de programação eletrônica.

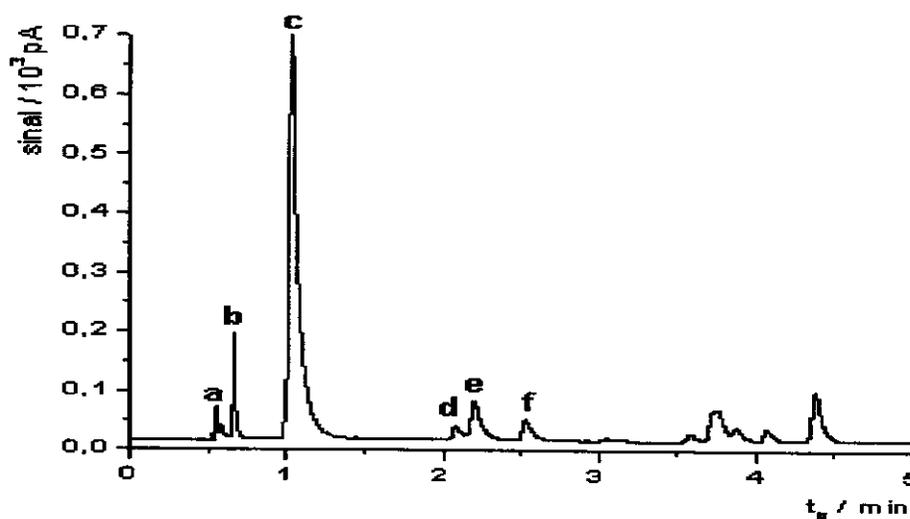


Figura 26. Cromatograma referente a extração de uma amostra de água contaminada com gasolina, obtido por dessorção pulsada (fibra PDMS): a. metanol, b. benzeno, c. tolueno, d. pico não identificado, e. etilbenzeno e f. *o*-xileno.

Para a fibra PDMS-DVB, as metodologias desenvolvidas foram aplicadas na quantificação de aromáticos em amostras de água contaminadas com óleo diesel (tabelas 25 - 28). A figura 27 ilustra um cromatograma representativo das amostras de água contaminadas com óleo diesel (simulação).

Tabela 23. Quantificação de benzeno em água contaminada com gasolina, por dessorção pulsada e convencional (fibra PDMS)^a, a = inclinação da curva; b = intercepto; r = coeficiente de correlação; r (C x P) = coeficiente de correlação entre valores de áreas obtidos para as duas metodologias, para as curvas analíticas $A = a\text{Conc} + b$ (A = área, Conc = concentração em mg L^{-1} ; considerando o fator de diluição).

n ^o	Pulsada				Convencional				r (CxP)
	a	b	r	Conc ^b	a	b	r	Conc ^b	
1	1,24 ± 0,04	277,2 ± 9,5	0,998	8,96	1,03 ± 0,04	237,0 ± 11,0	0,995	9,18	0,996
2	1,07 ± 0,04	149,3 ± 6,9	0,995	5,58	0,86 ± 0,03	121,1 ± 4,8	0,996	5,63	0,995
3	0,82 ± 0,03	129,4 ± 6,4	0,996	6,29	0,72 ± 0,03	95,7 ± 6,7	0,995	5,34	0,999
4	0,98 ± 0,03	198,1 ± 4,4	0,998	8,10	0,78 ± 0,04	156,9 ± 7,2	0,992	8,06	0,997
5	1,15 ± 0,06	223,4 ± 10,2	0,993	7,77	0,95 ± 0,05	165,3 ± 8,1	0,993	6,93	0,994
	LQ ^b	0,070 ± 0,020			LQ ^b	0,090 ± 0,020			
	LD ^b	0,020 ± 0,010			LD ^b	0,030 ± 0,010			

a. P, t_D, t_P, T_C, T_D e F: 35 psi, 0,30 min, 0, 51 min, 70 °C, 250 °C e 2,0 mL min⁻¹; b. mg L⁻¹; n^o = número da amostra.

Tabela 24. Quantificação de *o*-xileno em água contaminada com gasolina, por dessorção pulsada e convencional (fibra PDMS)^a

n ^o	Pulsada				Convencional				r (CxP)
	a	b	r	Conc ^b	a	b	r	Conc ^b	
1	5,37 ± 0,24	216,6 ± 32,0	0,994	1,61	4,80 ± 0,24	202,3 ± 31,6	0,993	1,69	0,999
2	4,83 ± 0,22	185,6 ± 21,1	0,994	1,54	4,18 ± 0,23	160,7 ± 21,8	0,991	1,54	0,994
3	5,08 ± 0,13	132,0 ± 22,3	0,998	1,04	4,54 ± 0,10	106,9 ± 17,2	0,998	0,94	1,000
4	5,11 ± 0,14	190,4 ± 26,8	0,998	1,49	4,49 ± 0,16	167,1 ± 29,8	0,996	1,49	1,000
5	5,15 ± 0,15	274,0 ± 26,8	0,998	2,13	4,66 ± 0,12	235,5 ± 22,9	0,998	2,02	0,999
	LQ ^b	0,050 ± 0,010			LQ ^b	0,050 ± 0,010			
	LD ^b	0,020 ± 0,005			LD ^b	0,020 ± 0,005			

a. P, t_D, t_P, T_C, T_D e F: 30 psi, 0,40 min, 0,65 min, 70°C, 250°C e 2,0 mL min⁻¹; b. mg L⁻¹ (considerando o fator de diluição); n^o = número da amostra.

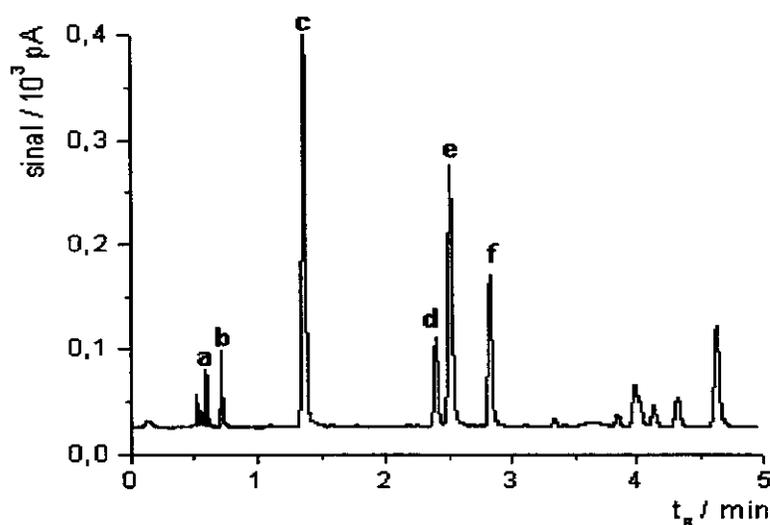


Figura 27: Cromatograma referente a extração de uma amostra de água contaminada com óleo diesel, obtido por dessorção pulsada (fibra PDMS-DVB): a. metanol b. benzeno, c. tolueno, d. etilbenzeno, e. pico não identificado e f. *o*-xileno

Tabela 25. Quantificação de benzeno em água contaminada com óleo diesel, por dessorção pulsada e convencional (fibra PDMS-DVB)^a

n ^o	Pulsada				Convencional				r (CxP)
	a	b	r	Conc ^b	a	b	r	Conc ^b	
1	1,83 ± 0,14	81,8 ± 16,0	0,991	1,79	1,42 ± 0,13	74,1 ± 15,5	0,987	2,09	0,999
2	1,61 ± 0,11	72,1 ± 12,9	0,993	1,80	1,31 ± 0,11	65,2 ± 12,9	0,990	1,99	0,997
3	5,30 ± 0,61	135,8 ± 44,8	0,981	1,02	4,72 ± 0,53	117,3 ± 39,0	0,982	0,99	0,996
4	6,08 ± 0,47	158,3 ± 34,2	0,991	1,04	5,43 ± 0,24	112,6 ± 17,9	0,997	0,83	0,996
	LQ ^b	0,080 ± 0,010			LQ ^b	0,080 ± 0,030			
	LD ^b	0,020 ± 0,005			LD ^b	0,030 ± 0,005			

a. P, t_D, t_P, T_C, T_D e F: 30 psi, 0,55 min, 1,00 min, 70°C, 240°C e 2,0 mL min⁻¹; b. mg L⁻¹ (considerando o fator de diluição); n^o = número da amostra.

Tabela 26. Quantificação de tolueno em água contaminada com óleo diesel, por dessorção pulsada e convencional (fibra PDMS-DVB)^a

n ^o	Pulsada				Convencional				r (CxP)
	a	b	r	Conc ^b	a	b	r	Conc ^b	
1	19,65 ± 0,61	1098,8 ± 27,1	0,999	2,24	18,08 ± 0,84	977,1 ± 37,7	0,997	2,16	0,996
2	4,89 ± 0,37	683,1 ± 45,5	0,992	5,60	4,37 ± 0,06	567,2 ± 8,0	0,999	5,19	0,994
3	8,45 ± 0,65	804,0 ± 66,7	0,991	3,80	6,95 ± 0,43	712,9 ± 44,0	0,994	4,10	0,992
4	21,71 ± 1,65	1107,4 ± 21,2	0,991	2,04	20,05 ± 1,41	850,6 ± 103,3	0,993	1,70	1,000
	LQ ^b	0,060 ± 0,030			LQ ^b	0,040 ± 0,020			
	LD ^b	0,020 ± 0,010			LD ^b	0,010 ± 0,005			

a. P, t_D, t_P, T_C, T_D e F: 35 psi, 0,65 min, 1,00 min, 70°C, 240°C e 2,0 mL min⁻¹; b. mg L⁻¹ (considerando o fator de diluição); n^o = número da amostra.

Tabela 27. Quantificação de etilbenzeno em água contaminada com óleo diesel, por dessorção pulsada e convencional (fibra PDMS-DVB)^a

n ^o	Pulsada				Convencional				r (CxP)
	a	b	r	Conc ^b	a	b	r	Conc ^b	
1	45,71 ± 1,01	338,0 ± 58,8	0,994	0,30	38,01 ± 0,81	245,0 ± 46,0	0,999	0,25	0,999
2	9,91 ± 0,30	489,8 ± 31,9	0,998	19,81	8,21 ± 0,23	377,8 ± 24,0	0,999	18,32	1,000
3	43,60 ± 1,41	312,4 ± 105,2	0,997	2,92	36,09 ± 1,12	304,0 ± 83,6	0,997	3,41	1,000
4	43,10 ± 2,52	299,6 ± 142,0	0,997	2,83	36,11 ± 1,94	226,4 ± 107,9	0,997	2,50	1,000
	LQ ^b	0,020 ± 0,010			LQ ^b	0,020 ± 0,010			
	LD ^b	0,010 ± 0,005			LD ^b	0,010 ± 0,005			

a. P, t_D, t_P, T_C, T_D e F: 30 psi, 0,75 min, 1,00 min, 70°C, 240°C e 2,0 mL min⁻¹; b. mg L⁻¹ (considerando o fator de diluição); n^o = número da amostra.

Tabela 28. Quantificação de *o*-xileno em água contaminada com óleo diesel, por dessorção pulsada e convencional (fibra PDMS-DVB)^a

n ^o	Pulsada				Convencional				r (CxP)
	a	b	r	Conc ^b	a	b	r	Conc ^b	
1	37,04 ± 1,91	554,2 ± 147,8	0,996	5,93	33,30 ± 1,21	437,1 ± 96,7	0,998	5,32	0,998
2	8,52 ± 0,20	728,9 ± 20,3	0,999	34,21	7,62 ± 0,30	619,3 ± 36,3	0,998	32,81	0,999
3	38,81 ± 1,11	443,0 ± 82,6	0,997	4,64	32,71 ± 0,80	463,9 ± 58,2	0,998	5,61	1,000
4	37,70 ± 2,92	429,5 ± 164,2	0,994	4,63	32,11 ± 2,23	352,1 ± 125,8	0,995	4,40	1,000
	LQ ^b	0,030 ± 0,010			LQ ^b	0,030 ± 0,010			
	LD ^b	0,010 ± 0,005			LD ^b	0,010 ± 0,005			

a. P, t_D, t_P, T_C, T_D e F: 30 psi, 0,75 min, 1,00 min, 70°C, 240°C e 2,0 mL min⁻¹; b. mg L⁻¹ (considerando o fator de diluição); n^o = número da amostra.

Observando-se os dados das tabelas anteriores, conclui-se que, embora não haja diferenças significativas nos valores de limite de detecção estatísticos entre as duas metodologias para as duas fibras avaliadas há um incremento em

sensibilidade com a utilização de programação eletrônica na quantificação de BTEX em amostras de água contaminadas com óleo diesel e gasolina.

Para as amostras de água contaminada com gasolina, não foram quantificados tolueno e etilbenzeno, por não haver diferença significativa no sinal do tolueno e sobreposição do pico do etilbenzeno com um possível isômero.

A aplicação da metodologia de injeção pulsada desenvolvida para PDMS, levou a um ganho médio em sensibilidade de 10 a 15 % e 14 a 25 % na quantificação de *o*-xileno e etilbenzeno, respectivamente, em amostras de água contaminada com gasolina. Para a simulação realizada com amostras de óleo diesel e extração dos analitos com a fibra PDMS-DVB, o ganho médio obtido foi de: 12 a 29 %, 8 a 22%, 19 a 20 % e 12 a 19 % para BTEX, nesta ordem. Esta faixa no valor do incremento provavelmente ocorre em função do efeito da matriz. Estes incrementos ocorrem com coeficientes de correlação entre o método de injeção pulsada e o método convencional próximos da unidade e, conseqüentemente, coerência entre os valores de concentração obtidos para as duas metodologias.

6. CONCLUSÕES

Os resultados sugerem um comportamento diferenciado dos analitos em relação ao uso de programação eletrônica de pressão na injeção em SPME, que resultam em incrementos em sensibilidade para as duas fibras avaliadas: PDMS e PDMS-DVB, com diminuição do tempo de análise.

Para a fibra PDMS-DVB, os valores de pressão otimizados para os analitos menos voláteis foram menores e a dessorção dos analitos para esta fibra é mais lenta. Já o efeito do tempo de pulso é semelhante ao observado para PDMS.

A utilização de parâmetros de programação eletrônica de pressão, parâmetros estes disponíveis nos cromatógrafos modernos e que até então não eram utilizados em SPME, parece ser mais adequada para a fibra PDMS-DVB pois incrementos em sensibilidade são gerados sem a ocorrência do alargamento do pico cromatográfico observado para PDMS. Além disso, foram observados incrementos em sensibilidade para o tolueno, o que não ocorria com a PDMS.

A metodologia desenvolvida para utilização de programação eletrônica de pressão para as duas fibras pôde ser aplicada na quantificação de BTEX em amostras de água contaminadas com gasolina e óleo diesel, com fibras PDMS e PDMS-DVB, respectivamente. Para a simulação de contaminação realizada com gasolina, não foram quantificados tolueno (em função da não observação de incremento no sinal para a fibra PDMS) e etilbenzeno (devido ao alargamento do pico cromatográfico, há sobreposição com um possível isômero).

Os resultados sugerem que este tipo de recurso pode ser vantajoso em análise de rotina para determinações por SPME-GC, para fibras onde o mecanismo de extração seja por adsorção.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. A. Sartoratto, *Análise de Constituintes Voláteis de Plantas Aromáticas por Micro-extração em Fase Sólida Acoplada a Cromatografia Gasosa*, Tese de Mestrado, Unicamp, Campinas, 2001.
2. A. L. Lopes, A. L. P. Valente, F. Augusto, *Microextração em Fase Sólida*, *Analytica*, 2 (2002) 25.
3. C. A. Lacerda, *Desenvolvimento de Fibras para a Micro Extração em Fase Sólida (SPME): Caracterização e Aplicação*, Tese de Doutorado, USP, São Carlos, 2001.
4. J. S. Fritz, M. Macka, *Solid-phase Trapping of Solutes for Further Chromatographic or Electrophoretic Analysis*, *Journal of Chromatography A*, 902 (2000) 137.
5. J. Pawliszyn, *Solid Phase Microextraction: Theory and Practice*, Wiley-VCH, New York, 1997.
6. Z. Mester, R. E. Sturgeon, J. W. Lam, *Sampling and Determination of Metal Hydrides by Solid Phase Microextraction Thermal Desorption Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*, *Journal of Analytical Spectrometry*, 15 (2000) 461.
7. M. Jia, Q.H. Zhang, D. B. Min, *Optimization of Solid-Phase Microextraction Analysis for Headspace Flavor Compounds of Orange Juice*, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46 (1998) 2744.
8. M. S. Fragueiro, F. A. Moreno, I. Lavilla, C. Bendicho, *Determination of Methylcyclopentadienyl-Manganese Tricarbonyl by Solid Phase Microextraction-Direct Thermal Desorption-Quartz Furnace Atomic Absorption spectrometry*, *Spectrochimica Acta B*, 56 (2001) 215.

9. K. D. Buchholz, J. Pawliszyn, Optimization of Solid-Phase Microextraction Conditions for Determination of Phenols, *Analytical Chemistry*, 66 (1994) 160.
10. J. Song, L. H. Fan, R. M. Beaudry, Application of Solid Phase Microextraction and Gas Chromatography Time-of-Flight Mass Spectrometry for Rapid Analysis of Flavor Volatiles in Tomato and Strawberry Fruits, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46 (1998) 3721.
11. S. Niedziella, S. Rudkin, M. Cooke, Evidence for Selectivity of Absorption of Volatile Compounds by a Polydimethylsiloxane Solid-Phase Microextraction Fibre, *Journal of Chromatography A*, 885 (2000) 457.
12. M. Godula, J. Hajslová, K. Alterová, Pulsed Splitless Injection and the Extent of Matrix Effects in the Analysis of Pesticides, *Journal of High Resolution Chromatography*, 22 (1999) 375.
13. P. L. Wylie, K. J. Klein, M. Q. Thompson, B. W. Hermann, Using Electronic Pressure Programming to Reduce the Decomposition of Labile Compounds During Splitless Injection, *Journal of High Resolution Chromatography*, 15 (1992) 763.
14. P. Wylie, K. Uchiyama, Improved Gas Chromatographic Analysis of Organophosphorus Pesticides with Pulsed Splitless Injection, *Journal of AOAC International*, 79 (1996) 571.
15. C. L. Arthur, J. Pawliszyn, Solid Phase Microextraction With Thermal Desorption Using Fused Silica Optical Fibers, *Analytical Chemistry*, 62 (1990) 2145.
16. C. L. Arthur, D. W. Potter, K.D. Buchholz, S. Motlagh, J. Pawliszyn, Solid Phase Microextraction for the Direct Analysis of Water: Theory and Practice, *LC-GC*, 10 (1992), 656.

17. C. L. Arthur, L. M. Killam, K. D. Buchholz, J. Pawliszyn, Automation and Optimization of Solid – Phase Microextraction, *Analytical Chemistry*, 64 (1992) 1960.
18. K. D. Buchhoz, J. Pawliszyn, Determination of Phenols by Solid-Phase Microextraction and Gas Chromatographic Analysis, *Environmental Science of Technology*, 27 (1993) 2844.
19. Z. Zhang, J. Pawliszyn, Headspace Solid-Phase Microextraction, *Analytical Chemistry*, 65 (1993) 1843.
20. B. MacGillivray, J. Pawliszyn, Headspace Solid-Phase Microextraction versus Purge and Trap for the Determination of Substituted Benzene in Water, *Journal of Chromatography Science*, 32 (1994) 317.
21. J. Pawliszyn, Sampling and Sample Preparation for Field and Laboratory: Fundamental and New Directions in Sample Preparation. *Comprehensive Analytical Chemistry XXXVII*, Elsevier, Amsterdam, 2002.
22. J. S. Fritz, *Analytical Solid-Phase Extraction*, Wiley, New York, 1999.
23. S. A. Scheppers-Wiercinski, *Solid Phase Microextraction: A Pratical Guide*, Marcel Dekke, New York, USA, 1999.
24. J. Pawliszyn, *Applications of Solid Phase Microextraction*, The Royal Society of Chemistry, Hertfordshire, UK, 1999.
25. J. A. Koziel, I. Novak, Sampling and Sample – Preparation Strategies Based on Solid-Phase Microextraction for Analysis of Indoor Air, *Trends in Analytical Chemistry*, 21 (2002) 840.
26. R. C. Nome, *Uso de Um Novo Método de Agitação para Microextração em Fase Sólida - SPME – na Determinação de Fenóis em Água*, Tese de Mestrado, UFSC, Florianópolis, 2002.

27. F. Augusto, A. L. P. Valente, Applications of Solid-Phase Microextraction to Chemical Analysis of Live Biological Samples, *Trends in Analytical Chemistry*, 21 (2002) 428.
28. T. Górecki, M. Belkin, J. Caruso, J. Pawliszyn, Solid Phase Microextraction as Sample Introduction Technique for Radio Frequency Glow Discharge Mass Spectrometry, *Analytical Communications*, 34 (1997) 275.
29. Z. Mester, R. Sturgeon, J. Pawliszyn, Solid Phase Microextraction as a Tool for Trace Element Speciation, *Spectrochimica Acta - B*, 56 (2001) 233.
30. L. Pillonel, J. O. Bosset, R. Tabacchi, Rapid Preconcentration and Enrichment Techniques for the Analysis of Food Volatile. A Review, *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*, 35 (2002) 1.
31. J. Pawliszyn, Evolution of Solid-Phase Microextraction Technology, *Journal of Chromatography A*, 885 (2000) 153.
32. J. J. Langenfeld, S. B. Hawthorne, D. J. Miller, Optimizing Split/Splitless Injection Port Parameters for Solid-Phase Microextraction, *Journal of Chromatography A*, 740 (1996) 139.
33. J. Zrostlíková, J. Hajslová, M. Godula, K. Mastovská, Performance of Programmed Temperature Vaporizer, Pulsed Splitless and On-Column Injection Techniques in Analysis of Pesticide Residues in Plant Matrices, *Journal of Chromatography A*, 937 (2001) 73.
34. H. M. McNair, J. M. Miller, *Basic Gas Chromatography*, John Wiley & Sons, New York, 1998.
35. W. Engewald, J. Teske, J. Efer, Programmed Temperature Vaporiser-Based Injection in Capillary Chromatography, *Journal of Chromatography A*, 856 (1999) 259.

36. K. Grob, M. Biedermann, Vaporising Systems for Large Volume Injection or on-line Transfer into Gas Chromatography: Classification, Critical, Remarks and Suggetions, *Journal of Chromatography A*, 750 (1996) 11.
37. E. C. Graña, M. I. T. Carou, S. M. Lorenzo, P. L. Mahia, E. F. Fernández, D. P. Rodriguez, Optimisation of a Programmed Split-Splitless Injector in The Gas Chromatographic-Mass Spectrometric Determination of Organochlorine Pesticides, *Journal of Chromatography A*, 958 (2002) 17.
38. M. Sklee, Inlet Systems in Gas Chromatography, in: R. L. Grob, *Modern Practice of Gas Chromatography*, J. Willey, New York, 1995.
39. Manual do Cromatógrafo HP 6850, Agilent Technologies.
40. H. R. Buser, P. Haglund, M. D. Müller, T. Poiger, C. Rappe, Discrimination and Thermal Degradation of Toxaphene Compounds in Capillary Gas Chromatography When Using Split/Splitless and On-Column Injection, *Chemosphere*, 41 (2000) 473
41. L. J. Hayasida, Avaliação do Efeito do Sistema de Introdução de Amostra na Análise Quantitativa de Álcoois Leves por Cromatografia Gasosa, Tese de Mestrado, USP, São Carlos, 1992.
42. W. Jennings, *Gas Chromatography with Glass Capillary Columns*, Academic Press, New York, 1980, p. 52.
43. P. C. Weston, Gas chromatography – Evolution and Revolution, *Trends in Analytical Chemistry*, 14 (1995) 8.
44. V. Ferreira, A. Escurdero, J. Salafranca, P. Fernández e J. Cacho, Matrix Effects and Solute Discrimination When Injecting Dirty Samples in Cappillary Columns, *Journal of Chromatography A*, 655 (1993) 257.
45. H. G. L. Mol, H. G. Janssen, C. A. Cramers, Large Volume Sample Introduction Using Temperature Programmable Injectors: Implications of Liner Diameter, *Journal of High Resolution Chromatography*, 18 (1995) 19.

46. K. Abel, An Evaluation of Vented Programmed Temperature Precolumns in Gas-Liquid Chromatography, *Journal of Chromatography*, 13 (1964) 14.
47. W. Vogt, K. Jacob, H. W. Obwexer, Sampling Method in Capillary Column Gas-Liquid Chromatography Allowing Injection up to 250 μL , *Journal of Chromatography*, 174 (1979) 437.
48. W. Vogt, K. Jacob, A. B. Ohnesorge, H. W. Obwexer, Capillary Gas Chromatographic Injection System for Large Sample Volumes, *Journal of Chromatography*, 186 (1979) 197.
49. S. Banfi, M. Bergna, M. Povoio, G. Contarini, Programmable Temperature Vaporizer (PTV) Applied to the Triglyceride Analysis of Milk Fat, *Journal of High Resolut. Chromatography*, 22 (1999) 93.
50. K. Grob, Z. Li, PTV Splitless Injection of Sample Volumes up to 20 μL , *Journal of High Resolution Chromatography*, 11 (1988) 626.
51. K. Grob, PTV Vapor Overflow – Principles of a Solvent Evaporation Technique for Introducing Large Volumes in Capillary GC, *Journal of High Resolution Chromatography*, 13 (1990) 540.
52. J. Staniewski, H. G. Janssen, C. A. Cramers, P. Sandra, Proceedings of the 15th International Symposium on Capillary Chromatography, Huthing, Heidelberg, 1993, p.808.
53. A. Peñalver, V. García, E. Pocurull, F. Borrull, R. M. Marcé, Stir Bar Sorptive Extraction and Large Volume Injection Gas Chromatography to Determine a Group of Endocrine Disrupters in Water Samples, *Journal of Chromatography A*, 1007 (2003) 1.
54. M. M. Vásquez, M. E. V. Blanco, S. M. Lorenzo, P. L. Mahía, E. F. Fernández, D. P. Rodrigues, Application of Programme-Temperature Split/Splitless Injection to the Trace Analysis of Aliphatic Hydrocarbons by Gas Chromatography, *Journal of Chromatography A*, 919 (2001) 363.

55. D. Louch, S. Motlagh, J. Pawliszyn, Dynamics of Organic Compound Extraction from Water Using Liquid-Coated Fused Silica Fibers, *Analytical Chemistry*, 64 (1992) 1187.
56. S. Mothes, R. Wennrich, Coupling of SPME and GC-AED for the Determination of Organometallic Compounds, *Mikrochimica Acta*, 135 (2000) 91.
57. F. J. Santos, M. T. Galceran, D. Fraisse, Application of Solid-Phase Microextraction to the Analysis of Volatile Organic Compounds in Water, *Journal of Chromatography A*, 742 (1996) 181.
58. P. A. Frazey, R. M Barkley, R.E Sievers, Solid-Phase Microextraction with Temperature-Programmed Desorption for the Analysis of Iodination Disinfection Byproducts, *Analytical Chemistry*, 70 (1998) 638.
59. J. A. Koziel, B. Shurmer, J. Pawliszyn, Fiber Conditioners for Solid Phase Microextraction: Design, Testing, and Application, *Journal of High Resolution Chromatography*, 23 (2000) 343.
60. A. Penalver, E. Pocurull, F. Borrull, R. M Marcé, Evaluation of Parameters in Solid-Phase Microextraction Process, *Chromatographia*, 50 (1999) 685.
61. A. Béne, A. Fornage, J. L. Luisier, P. Pichler, J C. Villettaz, A New Method for the Rapid Determination of Volatile Substances: the SPME-Direct Method, Part I: Apparatus and Working Conditions, *Sensors and Actuators B-Chemical*, 72 (2001), 184.
62. M. S. Fragueiro, F. Alava-Moreno, I. Lavilla, C. Bendicho, Determination of Tetraethyllead by Solid Phase Microextraction-Thermal Desorption- Quartz Furnace Atomic Absorption Spectrometry, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 15 (2000) 705.

63. N. H. Snow, P. Okeyo, Initial Bandwidth Resulting from Splitless and Solid Phase Microextraction Gas Chromatographic Injections, *Journal of High Resolution Chromatography*, 20 (1997) 77.
64. S. Klick, Evaluation of Different Injection Techniques in the Gas Chromatographic Determination of Thermolabile Trace Impurities in a Drug Substance, *Journal of Chromatography A*, 689 (1995) 69.
65. U. M. Spiroudi, A. Fotopoulou, Matrix Effect in Gas Chromatographic Determination of Insecticides and Fungicides in Vegetable, *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 84 (2004) 15.
66. M. Vicenti, C. Minero, M. Segal, C. Rovida, Optimized Splitless Injection of Hydroxylated PCBs by Pressure Pulse Programming, *Journal of High Resolution Chromatography*, 18 (1995) 490.
67. B. B. Neto, I. S. Scarminio, R. E. Bruns, *Como Fazer Experimentos: Pesquisa e Desenvolvimento na Ciência e Na Indústria*, Unicamp, Campinas, 2001.
68. www.chemkeys.com/bra/md/peeo_6/tepc_2.html, em 30/03/2004.
69. C.G. Zampronio, *Aplicação de Métodos de Análise Multivariada em Espectrometria de Massas para Determinação de Compostos Orgânicos Voláteis*, Tese de doutorado, Unicamp, Campinas, 2002.
70. T. Górecki, Solid versus Liquid Coating, in: J. Pawliszyn, *Applications of Solid Phase Microextraction*, Royal Society of Chemistry, Cambridge, 1999.
71. S. Budavari, M. J. O Neil, A. Smith, P. E. Heckelman, *The Merck Index: An Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals*, Merck & CO., Inc., New Jersey, 1989.
72. A. L. P. Valente, F. Augusto e E. C. Rocha, Chromatographic Quantitation Using Fractions of the Peak Areas, *Journal of High Resolution Chromatography*, 18 (1995) 315.

73. C. H. Collins, G. L. Braga, P. S. Bonato, Introdução a Métodos Cromatográficos, Unicamp, Campinas, 1993.