

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS**  
**INSTITUTO DE QUÍMICA**

**TESE DE DOUTORADO**



**DISPOSITIVOS HIFENADOS PARA MICROEXTRAÇÃO**  
**EM FASE SÓLIDA**

Autor



**ROGÉRIO CESAR DA SILVA**

Orientador

**FABIO AUGUSTO**

Campinas, março de 2005.

|                            |                                       |
|----------------------------|---------------------------------------|
| IQ                         |                                       |
| Nº CHAMADA                 |                                       |
| TUNICAMP                   |                                       |
| 2005                       |                                       |
| V                          | EX                                    |
| TOMBO BCI 65274            |                                       |
| PROC. 16-9 20030-05        |                                       |
| C <input type="checkbox"/> | D <input checked="" type="checkbox"/> |
| PREÇO 11,00                |                                       |
| DATA 11/08/05              |                                       |
| Nº CPD                     |                                       |

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA  
BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE QUÍMICA  
DA UNICAMP**

Si81D- 360428

Si38d

Silva, Rogério César da.

Dispositivos hifenados para microextração em fase sólida / Rogério César da Silva. – Campinas, SP: [s.n], 2005.

Orientador: Fabio Augusto.

Tese – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química.

1. SPME. 2. *Headspace* dinâmico. 3. Gás *stripping*.  
4. SPME-MS. I. Augusto, Fabio. II. Instituto de Química.  
III. Título.

**Título em inglês:** Hyphenated devices for solid phase microextraction.

**Palavras-chave em inglês:** SPME, Dynamic headspace, Stripping gas, SPME-MS.

**Área de concentração:** Química Analítica.

**Titulação:** Doutor em Química Analítica.

**Banca examinadora:** Profa. Dra. Janete Harumi Yariwake (IQSC-USP), Prof. Dr. Valmir Fascio Juliano (DQ-UFMG), Prof. Dr. José Alberto Fracassi da Silva (IQ-UNICAMP), Prof. Dr. Marcos Nogueira Eberlin (IQ-UNICAMP).

**Data de defesa:** 18/03/2005.

*Este trabalho é dedicado especialmente aos meus queridos pais  
Roberto e Genilda,  
pela oportunidade e incentivo ao ensino conquistado até os dias de hoje,  
pela ternura que me transmitem, e pela compreensão nos  
momentos alegres e difíceis de minha vida...*

*E com amor a minha querida noiva Célia, pela compreensão,  
incentivo, e por começar fazer parte de minha vida  
mesmo antes do início desta tese.*

## AGRADECIMENTOS

- *A Deus, por ser a força maior existente;*
- *Ao professor Dr. Fabio Augusto, pela oportunidade concedida, pelo conhecimento compartilhado durante estes quatro anos, e de ser seu segundo aluno de doutorado;*
- *Ao professor Dr. Antonio Luis Pires Valente (in memorian);*
- *Aos grandes amigos da República Paraná, Altair, Eduardo e César pelo convívio, amizade, discussões, compartilhamento de conhecimentos, e cervejadas. E ao amigo mineiro Anízio que adentrou a casa no decorrer do doutorado.*
- *Aos amigos do laboratório de GC, que iniciaram comigo Ana Maria, Raquel, Alexandre, Sandra Rivelino, Gláucia, Ana Claudia, Carlos, André, Cássio, Ernesto pelo convívio, amizade, festas, discussões e é claro a técnica muito divertida e sem tempo ruim, Ana Lucia.*
- *À amiga Neife Lillian, pela amizade, ajuda nos momentos precisos, tanto aqui em Campinas, como nas viagens de idas e vindas a Maringá.*
- *Ao professor Dr. Marcos N. Eberlin, pela confiança e oportunidade concedida de desenvolvimento de trabalho em conjunto em seu laboratório de Espectrometria de Massas, o qual foi possível através do amigo Eduardo.*
- *Aos amigos do laboratório Thomson de Espectrometria de Massas, Regina, Renato, Adão, Demiã, Rodrigo, Leonardo, Ligia, Alexandra, Adriana, Daniela e dentre outros ali presente...*
- *A Dra Vânia Zuin, aluna de pós doutorado do Instituto de Química da USP, pelo trabalho em colaboração da técnica de FIMS.*
- *Aos funcionários do Instituto de Química, que contribuíram para as solicitações atendidas.*
- *A Capes, pelo auxílio financeiro concedido.*

- *À Universidade Estadual de Campinas, pela oportunidade de aprendizado concedida onde muitos ofuscam em tela.*
- *Aos parentes (tios, primos e avós) que de um modo ou de outro contribuíram para estar aqui.*
- *Em especial ao Euclides e á Cidinha pelo incentivo e apoio moral. E é claro não podia esquecer de seus filhos Junior e Marcos pela amizade, conversas, festas e cervejadas que tomamos juntos quando em Maringá estava. Ah! E também a Aline, esta namorada de Junior é claro.*
- *Ao grande amigo Mário e sua namorada Aline, que embora à distância nunca deixamos de ter amizade.*
- *Novamente aos meus pais, Roberto e Genilda, que sempre me deram força para nunca desistir deste sonho, que se iniciou ao final de minha graduação.*
- *E a minha noiva, Célia Eliane de Lara a quem me tem confiança, carinho, ternura, e principalmente paciência enquanto estive longe para que pudesse realizar este trabalho.*

**Muito Obrigado**

## **CURRICULUM VITAE**

### **1. FORMAÇÃO ACADÊMICA**

**Graduação:** **Bacharel em Química** – Universidade Estadual de Maringá – PR, em fevereiro de 1995 a fevereiro de 1999.

**Mestrado:** Química Aplicada, Área de Concentração: Produtos do Meio Ambiente. Universidade Estadual de Maringá – PR, em fevereiro de 1999 a fevereiro de 2001.

**2. ESTÁGIO: COCAMAR** – Cooperativa de Cafeicultores e Agropecuaristas de Maringá LTDA, Maringá – PR de 27/03/1998 a 05/05/1998.

**3. INICIAÇÃO CIENTÍFICA** Participação do Programa Especial de Treinamento – PET – bolsista Capes de janeiro de 1996 a janeiro de 1997.

### **4. TRABALHOS CIENTÍFICOS EM CONGRESSOS:**

**Nacionais: 4**

**Internacionais: 10**

### **5. ARTIGOS PUBLICADOS EM PERIÓDICOS:**

1. SILVA, R. C.; MEURER, E. C.; EBERLIN, M. N.; AUGUSTO, F. Determination of Pthalates in water using fiber introduction mass spectrometry. *Analyst*. v. 130, p. 188 - 192, 2005.

2. SILVA, R. C.; AGUIAR, P. M. S.; AUGUSTO, F. Coupling of Dynamic Headspace Sampling and Solid Phase Microextraction. *Chromatographia*. v. 60, n. 11-12, p. 687 - 691, 2004.
3. MEURER, E. C.; TOMAZELA, D. M.; SILVA, R. C.; AUGUSTO, F.; EBERLIN, M. N. Fiber Introduction Mass Spectrometry: Fully Direct Coupling of Solid-Phase Microextraction with Mass Spectrometry. *Analytical Chemistry*. v. 74, n. 21, p. 5688 - 5692, 2002.
4. SILVA, R. C., MATSUSHITA, M., SOUZA, N. E., PRADO, I. N. Effects of substitution of corn by pulp citrous pellets on muscle fatty acid composition of finished heifers. *Anais da Associação Brasileira de Química*. Brasil. v. 50, n. 4, p. 175 - 181, 2001.

#### 6. PROCESSO OU TÉCNICAS COM REGISTRO DE PATENTE:

1. SILVA, R. C.; AUGUSTO, F.; AGUIAR, P. M. S.; VALENTE, A. L. P. DISPOSITIVO PARA MICRO-EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA COMBINADA À ANÁLISE DINÂMICA DE HEADSPACE (DHS-SPME). 2002.
2. SILVA, R. C.; EBERLIN, M. N.; AUGUSTO, F.; TOMAZELA, D. M.; MEURER, E. C. ESPECTROMETRIA DE MASSAS POR INTRODUÇÃO VIA FIBRA. 2002.

#### 7. PARTICIPACÃO EM CURSOS E EVENTOS: 9

## RESUMO

**Título:** DISPOSITIVOS HIFENADOS PARA MICROEXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA

**Autor:** Rogério Cesar da Silva

**Orientador:** Prof. Dr. Fabio Augusto

Neste trabalho foram construídos sistemas para amostragem em *Headspace* Dinâmico (DHS) combinados a Microextração em Fase Sólida (SPME), e foram feitas as avaliações de diferentes fibras de SPME para aplicações em Espectrometria de Massas por Introdução via Fibra (FIMS). Nos sistemas DHS-SPME desenvolvidos, analitos de amostras sólidas, líquidas ou viscosas podem ser extraídos. Um fluxo contínuo de gás de *stripping* passa através da amostra e o gás enriquecido com os compostos voláteis é direcionado a uma cela, onde a fibra de SPME é exposta para extração. Foi verificado que tanto o tempo de extração quanto a vazão do gás de *stripping* aplicado devem ser otimizados. Três formas de propulsão do gás de *stripping* foram estudadas, sendo duas destas portáteis e potencialmente úteis para análise intralaboratoriais e a amostragem de campo. Os dispositivos proporcionaram alta sensibilidade, além de ter fácil manuseio, com reduzido consumo de amostra e baixo custo. Em FIMS (acoplamento direto entre SPME e Espectrometria de Massas), três fibras de SPME foram avaliadas (polidimetilsiloxano (PDMS) de 100  $\mu\text{m}$ , PDMS / Divinilbenzeno (PDMS / DVB) de 65  $\mu\text{m}$  e Carbowax / DVB de 65  $\mu\text{m}$ ) além de uma feita em laboratório (PDMS / álcool polivinílico de  $\sim 5 \mu\text{m}$ ) para a determinação de ftalatos em água mineral e de pesticidas em folhas de maracujá, respectivamente. Para as fibras avaliadas diferentes perfis dos sinais analíticos foram observados. A formação de picos espúrios caracterizados como “ruído químico” ocorreu para fibras com sorventes hidrofílicos ou porosos.

## ABSTRACT

**Título:     HYPHENATED       DEVICES       FOR       SOLID       PHASE  
MICROEXTRACTION**

**Author:** Rogério Cesar da Silva

**Supervisor:** Prof. Dr. Fabio Augusto

In this work systems for Dynamic *Headspace* sampling (DHS) combined to Solid Phase Microextraction (SPME) were developed, and different SPME fibers were evaluated for applications in Fiber Introduction Mass Spectrometry (FIMS). In the DHS-SPME systems assembled, analytes from solid, liquid or viscous samples can be extracted. A continuous flow of *stripping* gas percolates the sample and the gas containing the volatile compounds is directed to a cell, where the SPME fiber is exposed for extraction. It was observed that both the extraction time and the *stripping* gas flow should be optimized. Three different *stripping* gas propulsion methods were studied, being two of them portable and potentially useful for intralaboratorial analyses and field sampling. The devices provided high sensitivity, in addition to easy handling and low cost. For FIMS (direct coupling of SPME and Mass Spectrometry), three commercial (100  $\mu\text{m}$  polydimethylsiloxane (PDMS), 65  $\mu\text{m}$  PDMS / divinylbenzene (PDMS / DVB) and 65  $\mu\text{m}$  Carbowax / DVB) and one home-made ( $\sim 5$   $\mu\text{m}$  PDMS / polyvinylalcohol) SPME fibers were evaluated to the determination of phthalates in mineral water and of pesticides in passion fruit leaves, respectively. To the evaluated fibers, different profiles for the analytical signals were observed. Generation of extraneous peaks characterized as chemical noise happened for fibers with hydrophilic or porous coatings.

## LISTA DE SÍMBOLOS

**AAS** – Espectrometria de Absorção Atômica;  
**CE-MS** – Eletroforese Capilar acoplada a Espectrometria de Massas;  
**DEHP** – Di(2-etilexil) ftalato;  
**DHS** – *Headspace* Dinâmico;  
**DHS-SPME** – Amostragem em Headspace Dinâmico;  
**DVB** – Divinilbenzeno;  
**d<sub>e</sub>** – Diâmetro externo;  
**d<sub>f</sub>** – Espessura da fibra;  
**d<sub>i</sub>** – Diâmetro interno;  
**d<sub>o</sub>** – Diâmetro de orifício;  
**EI** – Ionização eletrônica;  
**EPA** – Environmental Protection Agency;  
**FID** – Detector por Ionização em Chama;  
**FIMS** – Espectrometria de Massas por Introdução via Fibra;  
**GC** – Cromatografia Gasosa;  
**GC-MS** – Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas;  
**HPLC** – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência;  
**HS** – Headspace Estático;  
**HS-SPME** – Amostragem em Headspace Estático;  
**ICP-MS** – Espectrometria de Massas com Plasma Indutivamente Acoplado;  
**L** – Comprimento;  
**LD** – Limite de detecção;  
**LLE** – Extração Líquido-Líquido;  
**LPME** – Microextração Líquido-líquido;  
**LQ** – Limite de quantificação;

**MMT** – Tricarbonil metilciclopentadienilmanganês;  
**MIMS** – Espectrometria de Massas por Introdução de Membrana;  
**MS** – Espectrometria de Massas;  
**OCP** – Pesticidas Ôrgano Clorados;  
**OPP** – Pesticidas Ôrgano Fosforados;  
***P. edulis*** – *Passiflora edulis*;  
**PDMS / PVA** – polidimetilsiloxano / álcool polivinílico;  
**PA** – Poliacrilato;  
**PAH** – Hidrocarbonetos Poliaromáticos;  
**SFE** – Extração com Fluido Supercrítico;  
**SPE** – Extração em Fase Sólida;  
**SPME** – Microextração em Fase Sólida;  
**SIM** – Monitoramento de Íon Seletivo;  
**T<sub>INJ</sub>** = Temperatura do injetor;  
**T<sub>DET</sub>** = Temperatura do detector;  
**T<sub>COL</sub>** = Temperatura da coluna;  
**UV** – Ultra Violeta.

## SUMÁRIO

|                                                                                                                          |               |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------|
| <b>ÍNDICE DE FIGURAS.....</b>                                                                                            | <b>xxi</b>    |
| <b>ÍNDICE DE TABELAS.....</b>                                                                                            | <b>xxvii</b>  |
| <b>CAPÍTULO I – INTRODUÇÃO.....</b>                                                                                      | <b>1</b>      |
| <i>1.1 INTRODUÇÃO.....</i>                                                                                               | <i>3</i>      |
| <i>1.2 OBJETIVOS GERAIS.....</i>                                                                                         | <i>4</i>      |
| <i>1.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....</i>                                                                                    | <i>5</i>      |
| <i>1.4 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</i>                                                                                    | <i>6</i>      |
| 1.4.1 Microextração em Fase Sólida (SPME).....                                                                           | 6             |
| 1.4.2 Tipos de revestimentos existentes para as fibras de SPME.....                                                      | 8             |
| 1.4.3 Modos de extração.....                                                                                             | 9             |
| 1.4.4 Teoria da SPME.....                                                                                                | 10            |
| 1.4.5 A cinética da SPME.....                                                                                            | 14            |
| 1.4.6 Aplicações da SPME.....                                                                                            | 18            |
| <br><b>CAPÍTULO II – AMOSTRAGEM EM HEADSPACE DINÂMICO<br/>COMBINADA COM MICROEXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA (DHS-SPME).....</b> | <br><b>21</b> |
| <i>2.1 INTRODUÇÃO.....</i>                                                                                               | <i>23</i>     |
| <i>2.2 MATERIAIS E MÉTODOS.....</i>                                                                                      | <i>24</i>     |
| 2.2.1 Equipamentos.....                                                                                                  | 24            |
| 2.2.2 Fibras de SPME.....                                                                                                | 24            |
| 2.2.3 Reagentes.....                                                                                                     | 25            |

|                                                                                     |                                                                             |           |
|-------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 2.2.4                                                                               | Dispositivo para amostragem em Headspace Dinâmico por SPME (DHS-SPME).....  | 25        |
| 2.2.5                                                                               | Dispositivo portátil de DHS-SPME.....                                       | 28        |
| 2.2.6                                                                               | Ensaio com aquecimento do gás de stripping.....                             | 29        |
| 2.2.7                                                                               | Caracterização analítica inicial do dispositivo DHS-SPME.....               | 30        |
| 2.2.8                                                                               | Aplicação do dispositivo de DHS-SPME a amostras não sintéticas.....         | 32        |
| 2.2.9                                                                               | Manga.....                                                                  | 32        |
| 2.2.10                                                                              | Líquor de cacau.....                                                        | 33        |
| 2.2.11                                                                              | Determinação de compostos orgânicos voláteis em solo.....                   | 34        |
| 2.2.12                                                                              | Voláteis em folhas de hortelã secas.....                                    | 35        |
| <b>2.3</b>                                                                          | <b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>                                          | <b>36</b> |
| 2.3.1                                                                               | Montagem do dispositivo de DHS-SPME.....                                    | 36        |
| 2.3.2                                                                               | Caracterização do dispositivo de DHS-SPME.....                              | 38        |
| 2.3.3                                                                               | Curvas analíticas obtidas com o dispositivo de DHS-SPME.....                | 48        |
| <b>2.4</b>                                                                          | <b>APLICAÇÃO DO DISPOSITIVO DE DHS-SPME AS AMOSTRAS NÃO SINTÉTICAS.....</b> | <b>52</b> |
| 2.4.1                                                                               | Manga.....                                                                  | 52        |
| 2.4.2                                                                               | Líquor de cacau.....                                                        | 56        |
| 2.4.3                                                                               | Compostos orgânicos voláteis em solo.....                                   | 61        |
| 2.4.4                                                                               | Extrações de voláteis em folhas de hortelã secas.....                       | 67        |
| <b>2.5</b>                                                                          | <b>CUSTOS PARA MONTAGEM DO DISPOSITIVO DE DHS-SPME.....</b>                 | <b>75</b> |
| <br>                                                                                |                                                                             |           |
| <b>CAPÍTULO III – ACOPLAMENTO DIRETO ENTRE SPME E ESPECTROMETRIA DE MASSAS.....</b> |                                                                             | <b>79</b> |
| <br>                                                                                |                                                                             |           |
| <b>3.1</b>                                                                          | <b>INTRODUÇÃO.....</b>                                                      | <b>81</b> |
| <b>3.2</b>                                                                          | <b>MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>                                             | <b>83</b> |

|                                                                                                              |           |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 3.2.1 Equipamentos.....                                                                                      | 83        |
| 3.2.2 Reagentes.....                                                                                         | 83        |
| 3.2.3 Amostras.....                                                                                          | 84        |
| 3.2.4 Microextração em Fase Sólida.....                                                                      | 84        |
| 3.2.5 Aplicador para SPME-MS.....                                                                            | 85        |
| 3.2.6 Interface SPME-MS.....                                                                                 | 86        |
| <b>3.3 AVALIAÇÃO DE DIFERENTES FIBRAS NA EXTRAÇÃO DE ÉSTERES DE ÁCIDO FTÁLICO COM DETECÇÃO POR FIMS.....</b> | <b>89</b> |
| 3.3.1 Ésteres de ácido ftálico.....                                                                          | 89        |
| 3.3.2 Detecção.....                                                                                          | 90        |
| 3.3.3 Seleção das fibras.....                                                                                | 90        |
| 3.3.4 Teste de repetibilidade.....                                                                           | 90        |
| 3.3.5 Curvas analíticas.....                                                                                 | 91        |
| 3.3.6 Aplicação do método.....                                                                               | 91        |
| <b>3.4 QUANTIFICAÇÃO EM INFUSOS DE <i>P. edulis</i>.....</b>                                                 | <b>91</b> |
| 3.4.1 Pesticidas.....                                                                                        | 91        |
| 3.4.2 Fibras de SPME.....                                                                                    | 92        |
| 3.4.3 Preparo da amostra e extração.....                                                                     | 92        |
| 3.4.4 Avaliação da metodologia analítica.....                                                                | 92        |
| <b>3.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>                                                                       | <b>93</b> |
| 3.5.1 Ésteres de ácido ftálico.....                                                                          | 93        |
| 3.5.2 Aplicação da metodologia em amostras.....                                                              | 100       |
| 3.5.3 Extração de pesticidas em ervas infusas.....                                                           | 101       |
| 3.5.4 SIM de amostras do chá dopadas com os pesticidas.....                                                  | 104       |

|                                        |                   |
|----------------------------------------|-------------------|
| <b>CAPÍTULO IV – CONCLUSÕES.....</b>   | <b>111</b>        |
| <b><i>4.1 CONCLUSÕES.....</i></b>      | <b><i>113</i></b> |
| <b>APENDICE A.....</b>                 | <b>115</b>        |
| <b>APENDICE B.....</b>                 | <b>133</b>        |
| <b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b> | <b>141</b>        |

## ÍNDICE DE FIGURAS

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figura 1:</b> Conjunto comercial de fibra para SPME: A) fibra retraída no interior da agulha (tubo hipodérmico de diâmetro externo de 0,56 mm); B) fibra exposta; 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 – microtubo de aço inoxidável; 8 - sílica fundida e 9 - núcleo de sílica fundida..... | 6  |
| <b>Figura 2:</b> Dispositivo comercial para SPME “holder”: 1 - fibra extratora; 2 - agulha de aço inoxidável; 3 - corpo do aplicador; 4 - septo de silicone; 5 - guia do aplicador; 6 - guia do êmbolo e 7 – êmbolo.....                                                                                                                                                                                                      | 7  |
| <b>Figura 3:</b> Modos de extração para SPME: A) extração direta; B) extração no modo <i>headspace</i> .....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | 10 |
| <b>Figura 4:</b> Modelo de camada limítrofe ( $\delta$ = espessura da camada limítrofe).....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | 16 |
| <b>Figura 5:</b> Processos envolvidos na extração de amostras heterogêneas que contêm partículas sólidas porosas. $K_{ea}$ é a constante de distribuição fase extratora/amostra matriz, $k_d$ é a razão da constante de dissociação do analito – matriz complexa, e $D_a$ e $D_e$ são difusão do analito na amostra matriz e fase extratora, respectivamente.....                                                             | 17 |
| <b>Figura 6:</b> Sistema DHS-SPME. 1 - Tubo de silicone; 2 - Peça de Teflon para conexão; 3 - Peça de Teflon; 4 - Tubo de vidro para amostra; 5 - Conexão para cela de extração através de fluxo; 6 - Cela de extração através de fluxo. Não são mostrados rotâmetro, frita e válvula interruptora manual.....                                                                                                                | 27 |
| <b>Figura 7:</b> Etapas de montagem do dispositivo de DHS-SPME. 1 – Fixação do tubo de entrada de gás de <i>stripping</i> na base; 2 – Inserção da cela de amostra; 3 – Preenchimento da cela de amostra; 4 – Adaptação da cela de extração e 5 – Passagem de gás com exposição da fibra na cela de extração.....                                                                                                             | 36 |
| <b>Figura 8:</b> Esquema do sistema de DHS-SPME.....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 37 |

**Figura 9:** Perfil de equilíbrio amostra/HS dos analitos de teste para extração por HS-SPME com fibra 100  $\mu\text{m}$  de PDMS. -■- B: benzeno; -●- T: tolueno; -▲- ClB: clorobenzeno; -▼- Et: etilbenzeno; -◆- o-X: o-xileno; +- nC<sub>10</sub>: decano; -x-Tp: terpineno.....38

**Figura 10:** Perfil de extração fibra/HS dos analitos de teste para extração por HS-SPME com fibra 100  $\mu\text{m}$  de PDMS. -■- B: benzeno; -●- T: tolueno; -▲- ClB: clorobenzeno; -▼- Et: etilbenzeno; -◆- o-X: o-xileno; +- nC<sub>10</sub>: decano.....39

**Figura 11:** Perfil de extração obtido com dispositivo DHS-SPME com vazão de gás de *stripping* de 3 mL min<sup>-1</sup>. -■- B: benzeno; -●- T: tolueno; -▲- ClB: clorobenzeno; -▼- Et: etilbenzeno; -◆- o-X: o-xileno; +- nC<sub>10</sub>: decano; -x- Tp: terpineno.....40

**Figura 12:** Perfil de extração obtido com dispositivo DHS-SPME com vazão de gás de *stripping* de 4,5 mL min<sup>-1</sup>. -■- B: benzeno; -●- T: tolueno; -▲- ClB: clorobenzeno; -▼- Et: etilbenzeno; -◆- o-X: o-xileno; +- nC<sub>10</sub>: decano; -x-Tp: terpineno.....41

**Figura 13:** Perfil de extração obtido com dispositivo DHS-SPME com vazão de gás de *stripping* de 6 mL min<sup>-1</sup>. -■- B: benzeno; -●- T: tolueno; -▲- ClB: clorobenzeno; -▼- Et: etilbenzeno; -◆- o-X: o-xileno; +- nC<sub>10</sub>: decano.....42

**Figura 14:** Perfil de extração obtido com dispositivo DHS-SPME com vazão de gás de *stripping* de 9,5 mL min<sup>-1</sup>. -■- B: benzeno; -●- T: tolueno; -▲- ClB: clorobenzeno; -▼- Et: etilbenzeno; -◆- o-X: o-xileno; +- nC<sub>10</sub>: decano; -x-Tp: terpineno.....43

**Figura 15:** Perfil de extração obtido com dispositivo DHS-SPME com vazão de gás de *stripping* de 12 mL min<sup>-1</sup>. -■- B: benzeno; -●- T: tolueno; -▲- ClB: clorobenzeno; -▼- Et: etilbenzeno; -◆- o-X: o-xileno; +- nC<sub>10</sub>: decano; -x-Tp: terpineno.....44

**Figura 16:** Variação na eficiência  $E$  das extrações com  $t_{\text{ext}}$  e  $F$  para as áreas dos picos cromatográficos obtidos com o sistema de DHS-SPME estimada pela equação

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 18; e variação da concentração dos analitos no gás de <i>stripping</i> $C_G$ com $t_{ext}$ e $F$ , estimado pela equação 19.....                                                                                                                                                                                                       | 46 |
| <b>Figura 17:</b> Cromatograma obtido por DHS-SPME com $t_{ext}$ de 1 min e vazão de 6 mL min <sup>-1</sup> de gás de <i>stripping</i> . Fibra de 100 µm de PDMS. Solução aquosa de 500 µg L <sup>-1</sup> de: 1 - benzeno; 2 - tolueno; 3 - clorobenzeno; 4 - etilbenzeno; 5 - <i>o</i> -xileno; 6 - decano; 7 - γ -terpineno.....    | 50 |
| <b>Figura 18:</b> Cromatograma obtido por HS-SPME com tempo de equilíbrio amostra/HS e tempo de extração fibra/HS de 5 min respectivamente. Fibra de 100 µm de PDMS. Solução aquosa de 500 µg L <sup>-1</sup> de: 1 - benzeno; 2 - tolueno; 3 - clorobenzeno; 4 - etilbenzeno; 5 - <i>o</i> -xileno; 6 - decano; 7 - γ -terpineno..... | 51 |
| <b>Figura 19:</b> Cromatogramas obtidos da extração de polpa de manga fresca por DHS-SPME e por HS-SPME.....                                                                                                                                                                                                                           | 55 |
| <b>Figura 20:</b> Sistema de DHS-SPME com uso de bomba peristáltica para propulsão de ar ambiente como gás de <i>stripping</i> .....                                                                                                                                                                                                   | 57 |
| <b>Figura 21:</b> Cromatogramas obtidos do líquido de cacau pelo dispositivo da extração de: A) DHS-SPME líquido de cacau puro; B) DHS-SPME dopados com 1190 ng g <sup>-1</sup> das alquilpirazinas; (1) 2-metil-; (2) 2,5-dimetil-; (3) 2,3-dimetil-; (4) 2,3,5-trimetil-; (5) tetrametilpirazina.....                                | 60 |
| <b>Figura 22:</b> Perfis cromatográficos obtidos por HS-SPME da extração de solo dopado com 100 ng g <sup>-1</sup> de: 1 - Benzeno; 2 - Tolueno; 3 - Clorobenzeno; 4 – Etilbenzeno e 5 – <i>o</i> -xileno.....                                                                                                                         | 61 |
| <b>Figura 23:</b> Determinação do tempo de pré-equilíbrio de extração por HS-SPME de 1 g solo dopado com 100 ng g <sup>-1</sup> de: -■- B: benzeno; -●- T: tolueno; -▲-ClB: clorobenzeno; -▼- Et: etilbenzeno; -◆- <i>o</i> -X: <i>o</i> -xileno. Fibra de 65 µm de PDMS / DVB.....                                                    | 62 |
| <b>Figura 24:</b> Determinação do tempo de extração por HS-SPME de 1 g de solo dopado com 100 ng g <sup>-1</sup> de: -■- B: benzeno; -●- T: tolueno; -▲-ClB: clorobenzeno; -                                                                                                                                                           |    |

▼- Et: etilbenzeno; -◆- o-X: o-xileno. Fibra de 65 µm de PDMS / DVB.....63

**Figura 25:** Perfil de extração dos compostos orgânicos voláteis em solo por DHS-SPME,  $F = 12 \text{ mL min}^{-1}$ . Fibra de 65 µm de PDMS / DVB utilizada na extração de 1 g de solo dopado com  $100 \text{ ng g}^{-1}$  de: -■- B: benzeno; -●- T: tolueno; -▲-ClB: clorobenzeno; -▼- Et: etilbenzeno; -◆- o-X: o-xileno ( $n = 1$ ).....64

**Figura 26:** Determinação da eficiência de extração por DHS-SPME com a fibra 65 µm de PDMS / DVB com diferentes  $F$  de gás de *stripping*. Extração de 1 g de solo dopado com  $100 \text{ ng g}^{-1}$  de: -■- B: benzeno; -●- T: tolueno; -▲-ClB: clorobenzeno; -▼- Et: etilbenzeno; -◆- o-X: o-xileno ( $n = 2$ ).....65

**Figura 27:** Sistema para DHS-SPME com gás de stripping aquecido. Bomba de aquário e bomba peristáltica usada para propulsão do gás de *stripping*.....68

**Figura 28:** Cromatogramas obtidos por (a) DHS-SPME ( $F = 12 \text{ mL min}^{-1}$ ) e (b) HS-SPME da extração de 0,5 g de hortelã, por 40 min com fibra de 65 µm de PDMS / DVB. A = ácido acético; B = 4-terpineol; C = *p*-alilanol; D =  $\beta$ -bourboneno; E = cariofileno e F = epibiciclosesquifelandreno.....69

**Figura 29:** Comparação das áreas dos compostos monitorados por HS-SPME e DHS-SPME.  $F = 12 \text{ mL min}^{-1}$  de gás de *stripping* sem aquecimento.....71

**Figura 30:** Cromatogramas obtidos da extração de hortelã por 40 min com dispositivo de DHS-SPME: A) com bomba de aquário e gás de stripping aquecido ( $F = 23 \text{ mL min}^{-1}$ ); B) com bomba peristáltica e gás de *stripping* aquecido ( $F = 20 \text{ mL min}^{-1}$ ). A = ácido acético; B = 4-terpineol; C = *p*-alilanol; D =  $\beta$ -bourboneno; E = cariofileno e F = epibiciclosesquifelandreno.....72

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figura 31:</b> Comparação das áreas dos compostos monitorados por HS-SPME e DHS-SPME com bomba de aquário e bomba peristáltica em diferentes tempos de extração.....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 74 |
| <b>Figura 32:</b> Comparação de áreas obtidas por HS-SPME e DHS-SPME, com gás de <i>stripping</i> aquecido e propulsão por bomba de aquário.....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | 75 |
| <b>Figura 33:</b> A) Aplicador desenvolvido para inserção direta das fibras de SPME no MS. B) Aplicador comercial.....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 85 |
| <b>Figura 34:</b> Espectrômetro de massas monoquadrupolar Extrel, utilizado no acoplamento com SPME. A) região ampliada da fonte de ionização na qual são inseridas as fibras de SPME através da sonda pelo aplicador.....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | 87 |
| <b>Figura 35:</b> Dois diferentes ângulos de visão e secções transversais do sistema SPME-MS. (A) secção transversal parcial da extremidade do holder de SPME-MS introduzido na sonda; (B) recobrimento da fibra de SPME no local da dessorção térmica e ionização do analito; (C) dois filamentos padrão para EI (e aquecimento); (D) bloco da fonte de ionização padrão Extrel MS; (E) linha de entrada de gás para ionização química; (F) linha de entrada de gás alargada para ¼ de polegada para permitir a introdução da amostra, da sonda de MIMS e de FIMS; (G) “o-ring” para vedação da sonda de SPME-MS; (H) septo de silicone de GC para vedação durante a introdução da agulha da fibra de SPME..... | 88 |
| <b>Figura 36:</b> A) perfil do sinal para 50 µg L <sup>-1</sup> para extração de solução aquosa do DMP; B) extração de água desionizada; C) background para as fibras PDMS / DVB; Carbowax / DVB e PDMS. Tempo e escalas de intensidades são os mesmos nas três Figuras com SIM para DMP ( <i>m/z</i> - 163).....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | 94 |
| <b>Figura 37:</b> Perfil do sinal obtido para 50 µg L <sup>-1</sup> de solução aquosa do DMP (SIM para os íons <i>m/z</i> - 163), DEP ( <i>m/z</i> - 177) e DPP ( <i>m/z</i> - 209) para as fibras a) Carbowax / DVB e b) PDMS / DVB de 65 µm.....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | 97 |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                    |            |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| <b>Figura 38:</b> Espectro obtido no modo full scan ( $m/z$ - 50 a 400): <b>A)</b> após a limpeza da fibra no injetor do GC; <b>B)</b> branco do chá; <b>C)</b> detalhe do branco do chá, mostrando o íon $m/z$ - 121.....                                                         | <b>102</b> |
| <b>Figura 39:</b> Espectro de massas (70-eV EI, modo scan, faixa de $m/z$ 50 - 400) de amostra de <i>P. edulis</i> dopadas com 100 ng mL <sup>-1</sup> . <b>(A)</b> fention ( $m/z$ - 278), <b>(B)</b> metilparation ( $m/z$ - 233). <b>(C)</b> branco da fibra de PDMS / PVA..... | <b>103</b> |
| <b>Figura 40:</b> Perfil do sinal de FIMS da amostra de <i>P. edulis</i> dopados com 100 ng mL <sup>-1</sup> de clorotalonil ( $m/z$ - 266) e fention ( $m/z$ - 278) usando as fibras de <b>(A)</b> PDMS / DVB e <b>(B)</b> PDMS / PVA.....                                        | <b>105</b> |

## ÍNDICE DE TABELAS

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tabela 1:</b> Fibras de SPME disponíveis comercialmente.....                                                                                                                                                                                                                                                          | 8  |
| <b>Tabela 2:</b> Comparação de vazões obtidas nas diferentes versões do sistema de DHS-SPME.....                                                                                                                                                                                                                         | 29 |
| <b>Tabela 3:</b> Coeficientes da reta obtidos para as curvas analíticas: $t_{ext}$ – tempo de extração (min); $F$ – vazão do gás de <i>stripping</i> (mL min <sup>-1</sup> ); $a$ – inclinação; $b$ – intercepto; $r$ – coeficiente de correlação; LD – limite de detecção (µg L <sup>-1</sup> ) (n = 3)...              | 49 |
| <b>Tabela 4:</b> Área (em unidade) dos constituintes voláteis da polpa de manga fresca extraída por DHS-SPME. ( $t_{ext}$ = tempo de extração) (n = 1).....                                                                                                                                                              | 53 |
| <b>Tabela 5:</b> Áreas dos picos dos constituintes de polpa de manga frescas e polpa industrializada.....                                                                                                                                                                                                                | 54 |
| <b>Tabela 6:</b> Parâmetros das curvas analíticas obtidas de alquilpirazinas dopadas em líquido de cacau; extração com fibra de 75 µm de Carboxen / PDMS.....                                                                                                                                                            | 58 |
| <b>Tabela 7:</b> Recuperação (em percentagem) para 238 ng g <sup>-1</sup> e 476 ng g <sup>-1</sup> das alquilpirazinas dopadas em líquido de cacau: A) dopagem e recuperação após obtenção da curva analítica; B) dopagem e recuperação após período de seis meses nas mesmas condições de extração para comparação..... | 59 |
| <b>Tabela 8:</b> Parâmetros das curvas analíticas obtidos da extração por DHS-SPME e HS-SPME de solo dopados com compostos orgânicos voláteis de 1 ng g <sup>-1</sup> a 20 ng g <sup>-1</sup> .....                                                                                                                      | 66 |
| <b>Tabela 9:</b> Exatidão determinada pelo percentual de recuperação do solo dopado em concentração de 3 ng g <sup>-1</sup> após seis meses de construção da curva analítica.....                                                                                                                                        | 67 |
| <b>Tabela 10:</b> Custos dos materiais dos dispositivos estudados em relação ao gás de <i>stripping</i> a ser utilizado.....                                                                                                                                                                                             | 76 |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |     |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>Tabela 11:</b> Repetibilidade (expressa como estimativa de desvio padrão relativo) para determinação de ftalatos ( $50 \mu\text{g L}^{-1}$ ) por SPME-MS.....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | 98  |
| <b>Tabela 12:</b> Parâmetros das curvas analíticas obtidas para determinação de ftalatos por SPME-MS ( $n = 3$ ).....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | 99  |
| <b>Tabela 13:</b> Concentrações $C$ ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) dos ftalatos em águas minerais e recuperação $R$ (%) das mesmas amostras dopadas com $25 \mu\text{g L}^{-1}$ de cada analito.....                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | 100 |
| <b>Tabela 14:</b> Inclinação $a$ , intercepto $b$ , coeficiente de correlação $r$ para a curva analítica obtida para o método multiresíduo, limite de detecção (LD) e de quantificação (LQ) em $\mu\text{g L}^{-1}$ , recuperação (R) em % e estimativa do desvio padrão relativo (RSD) para pesticidas organoclorados e organofosforados em infusões de <i>P. edulis</i> usando método otimizado para HS-SPME-MS e fibra PDMS / PVA ( $n = 3$ ).....                                               | 107 |
| <b>Tabela 15:</b> Inclinação $a$ , intercepto $b$ , coeficiente de correlação $r$ para as curvas analíticas obtidas para o método monoresíduo para $\alpha$ -endosulfan e metil paration, limite de detecção (LD) e quantificação (LQ) em $\mu\text{g L}^{-1}$ , recuperação (R) em % e estimativa do desvio padrão relativo (RSD) para pesticidas organoclorados e organofosforados em infusão de <i>P. edulis</i> usando método otimizado para HS-SPME-MS com a fibra PDMS / PVA ( $n = 3$ )..... | 108 |

# **CAPÍTULO I**

## ***INTRODUÇÃO***

## 1.1 INTRODUÇÃO.

Um instrumento analítico ideal seria aquele que pudesse operar sem intervenção humana, que realizasse todos os passos analíticos da amostragem à análise dos dados, e que pudesse tomar decisões baseadas nos resultados obtidos. Métodos tradicionais de preparo de amostras tipicamente consomem tempo, e envolvem procedimentos com muitos passos, o que pode levar à perda de analitos e uso extensivo de solventes orgânicos.<sup>1</sup> Uma das muitas técnicas apropriadas na análise de compostos é a Cromatografia Gasosa (GC) devido a suas características, na qual incluem eficiência de separação extremamente alta, disponibilidade de um sistema de detecção universal (como por exemplo o detector por ionização em chama – FID), e a possibilidade de acoplamento à técnicas espectroscópicas (como por exemplo Espectrometria de Massas - MS).<sup>2</sup>

Muitas técnicas analíticas são utilizadas em preparo ou pré-tratamento de amostra na extração de espécies de interesse para análises subsequentes por GC e em outros equipamentos analíticos. Algumas destas técnicas seriam Extração Líquido-Líquido (LLE), Extração com Fluido Supercrítico (SFE), Extração em Fase Sólida (SPE), e mais recentemente as técnicas de microextração - como a Microextração em Fase Sólida (SPME) e a Microextração Líquido-líquido (LPME).<sup>3-5</sup> Todavia, as técnicas de LLE e de SPE demandam o uso de grandes quantidades de solvente e a SFE o uso de altas temperaturas e pressões.

Com base na extração e pré-concentração de compostos voláteis, nas últimas décadas, duas técnicas foram descritas como preferidas para análise por GC, sendo estas a amostragem em *headspace* estática (HS), na qual a amostra se encontra dentro de um frasco lacrado e o *headspace* acima da amostra é coletado com uma seringa própria (gás-tight) ou por pressurização do frasco; e a amostragem em

*headspace* dinâmico (DHS), na qual um gás passa através da amostra e os analitos voláteis são coletados por um material sorvente (purge and trap).<sup>6</sup>

Recentemente, a técnica de Microextração em Fase Sólida (SPME – do inglês *Solid Phase Microextraction*) vem sendo um atrativo no preparo e pré-tratamento de diversos tipos de amostras. SPME é uma técnica de extração não exaustiva que utiliza materiais sorventes revestidos sobre uma fibra de sílica.<sup>4,7</sup> A GC é a principal técnica de análise para a SPME desde o seu desenvolvimento sendo que a amostragem das espécies de interesse por *headspace* ou por imersão direta em solução foi fundamental para o sucesso da técnica. Desde então, tem-se buscado o desenvolvimento de novos métodos de extração e de acoplamento de SPME a outros equipamentos analíticos para aumento de sensibilidade e rapidez em análises, assim como a modificação e o desenvolvimento de novos tipos de recobrimento para as fibras, que evidenciam a busca em obter maior eficiência de extração, seletividade e estabilidade.<sup>4,7-9</sup>

Em vista das menções sobre a GC e a SPME na extração de compostos em amostras diversas os objetivos propostos do trabalho foram:

## 1.2 OBJETIVOS GERAIS.

- Desenvolver um dispositivo para extração e pré-concentração de compostos voláteis combinando a amostragem em *headspace* dinâmico e SPME;
- Estudar o acoplamento direto da SPME com Espectrometria de Massas para identificação e quantificação de espécies diversas.

### 1.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

Os objetivos específicos foram relacionados nas seguintes etapas:

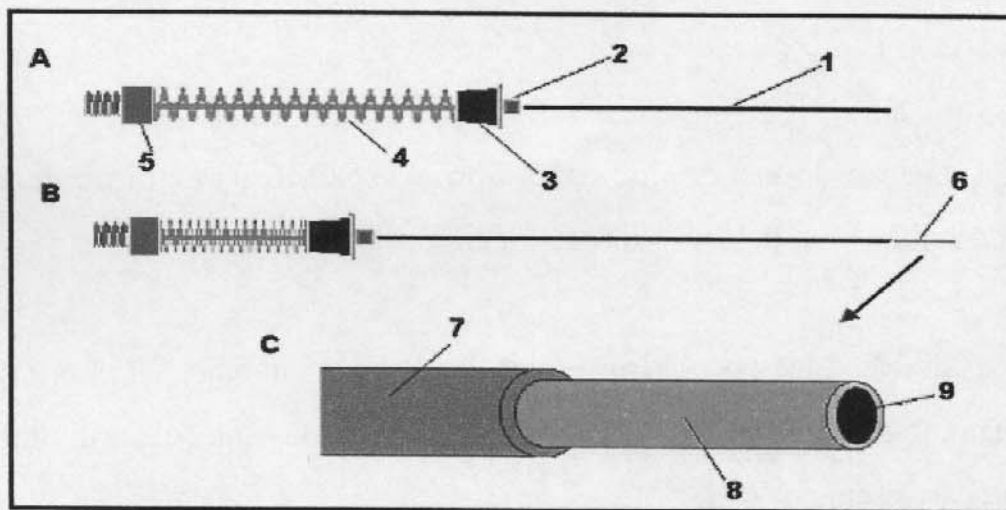
- ➔ Montagem e caracterização inicial do dispositivo e da sub-técnica a ela associada (DHS-SPME);
- ➔ Teste com a versão modificada portátil e semiportátil do dispositivo DHS-SPME (em diferentes temperaturas e vazões do gás de *stripping*);
- ➔ Aplicação do dispositivo para amostras verdadeiras;
- ➔ Avaliação do uso de diferentes fibras de SPME na extração de ésteres de ácido ftálico com detecção direta por MS;
- ➔ Extração de pesticidas em folhas de maracujá (*Passiflora edulis*) utilizando-se uma fibra de polidimetilsiloxano / álcool polivinílico com detecção direta por MS.

## 1.4 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.

### 1.4.1 Microextração em Fase Sólida (SPME).

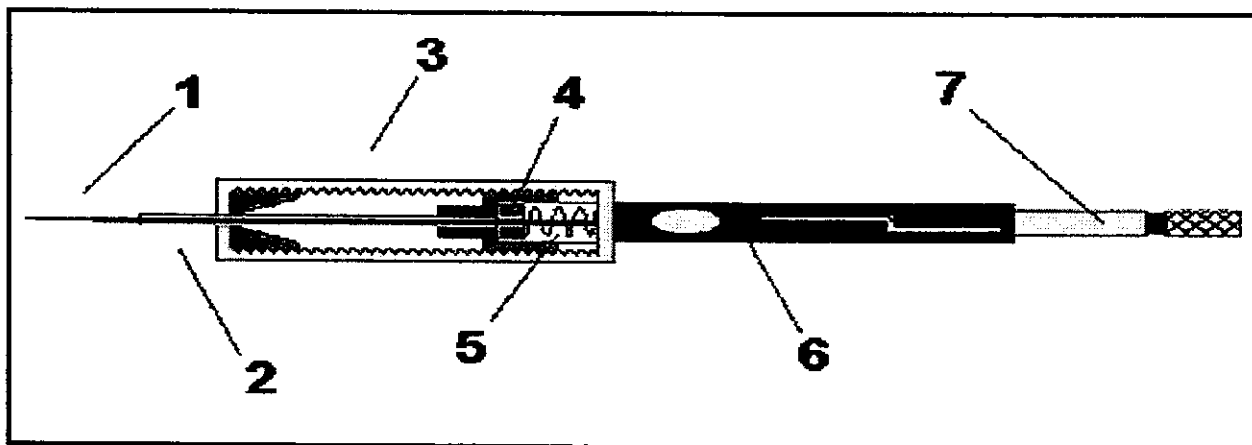
Um procedimento analítico pode ter vários passos: amostragem, preparo da amostra, quantificação, avaliação estatística e tomada de decisões. A técnica de Microextração em Fase Sólida (SPME) foi desenvolvida por Janusz Pawliszyn na década de 90, combinando extração e pré-concentração das espécies de interesse em uma única etapa e com subsequente análise por um instrumento analítico.<sup>10,11</sup>

O dispositivo básico de SPME consiste de um bastão de fibra ótica, de sílica fundida de 100 mm de comprimento, e com 10 mm de uma extremidade recoberto com um filme fino de um polímero líquido ou um sólido disperso em matriz polimérica.<sup>11,12</sup> A Figura 1 mostra com detalhes todo o conjunto comercial de fibra para SPME.



**Figura 1:** Conjunto comercial de fibra para SPME: A) fibra retraída no interior da agulha (tubo hipodérmico de diâmetro externo de 0,56 mm); B) fibra exposta; 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 - microtubo de aço inoxidável; 8 - sílica fundida e 9 - núcleo de sílica fundida.

Devido à fragilidade das fibras de SPME e para o seu manuseio adequado, o conjunto comercial é adaptado a um dispositivo (holder) próprio com funcionamento similar ao de uma seringa para injeção líquida.<sup>12</sup> A Figura 2 mostra com detalhes o dispositivo e o conjunto comercial de fibra para SPME adaptado.



**Figura 2:** Dispositivo comercial para SPME “holder”: 1 - fibra extratora; 2 - agulha de aço inoxidável; 3 - corpo do aplicador; 4 - septo de silicone; 5 - guia do aplicador; 6 - guia do êmbolo e 7 – êmbolo.

O conjunto de fibra (Figura 1) é instalado no holder (Figura 2), na qual a porca da fibra (4 - Figura 1) é rosqueada ao êmbolo (7 – Figura 2). Na outra extremidade a agulha de aço inoxidável (2 – Figura 2) fica exposta ao ambiente e a fibra de sílica (1 – Figura 2) protegida em seu interior. A agulha de aço inoxidável é utilizada na perfuração de septos, e com o movimento do êmbolo, a fibra revestida por um material sorvente extrator é exposta ao ambiente ocorrendo assim à extração. Após um tempo de extração adequado a fibra é retraída novamente ao interior da agulha e levada ao injetor do GC para análise cromatográfica.

### 1.4.2 Tipos de revestimentos existentes para as fibras de SPME.

As fibras de sílica para SPME são revestidas por filmes finos de um polímero (como o polidimetilsiloxano (PDMS) ou poliacrilato (PA)), ou por filmes com base em sólidos adsorventes (como carvão ativo (Carboxen) ou divinilbenzeno (DVB)), dispersos em uma matriz polimérica de PDMS ou Carbowax 20M. As espessuras desses filmes variam de 7 a 100  $\mu\text{m}$ , resultando em um volume de fase extratora de 0,03 a 0,7  $\mu\text{L}$ . Dependendo do tipo de fibra escolhida podem-se ter dois mecanismos físico-químicos característicos responsáveis pela extração, a partição (ou absorção) e a adsorção. No caso das fases poliméricas, o fenômeno responsável é a partição, e para as fibras recobertas com sólidos dispersos em matriz polimérica o mecanismo é a adsorção. A Tabela 1 mostra algumas das fibras de SPME disponíveis e suas aplicações.<sup>11,12</sup>

**Tabela 1:** Fibras de SPME disponíveis comercialmente.

| Composição Química                                                        | $d_f/\mu\text{m}$ | Aplicação sugerida                             |
|---------------------------------------------------------------------------|-------------------|------------------------------------------------|
| Recobrimentos poliméricos puro: Partição                                  |                   |                                                |
| PDMS (polidimetilsiloxano)                                                | 7, 30, 100        | Para compostos apolares, volatilidade variada; |
| Poliacrilato (PA)                                                         | 85                | Para compostos de média a alta polaridade;     |
| Recobrimentos de sólidos porosos dispersos em matriz polimérica: Adsorção |                   |                                                |
| PDMS / DVB (divinilbenzeno)                                               | 60*, 66           | Voláteis e não voláteis de alta polaridade;    |
| Carbowax / DVB                                                            | 65, 70            | Para compostos de média a alta polaridade;     |
| Carboxen / PDMS                                                           | 75, 85*           | Para compostos voláteis;                       |

\*Fibras para a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência.  $d_f$ = espessura da fibra ( $\mu\text{m}$ ).

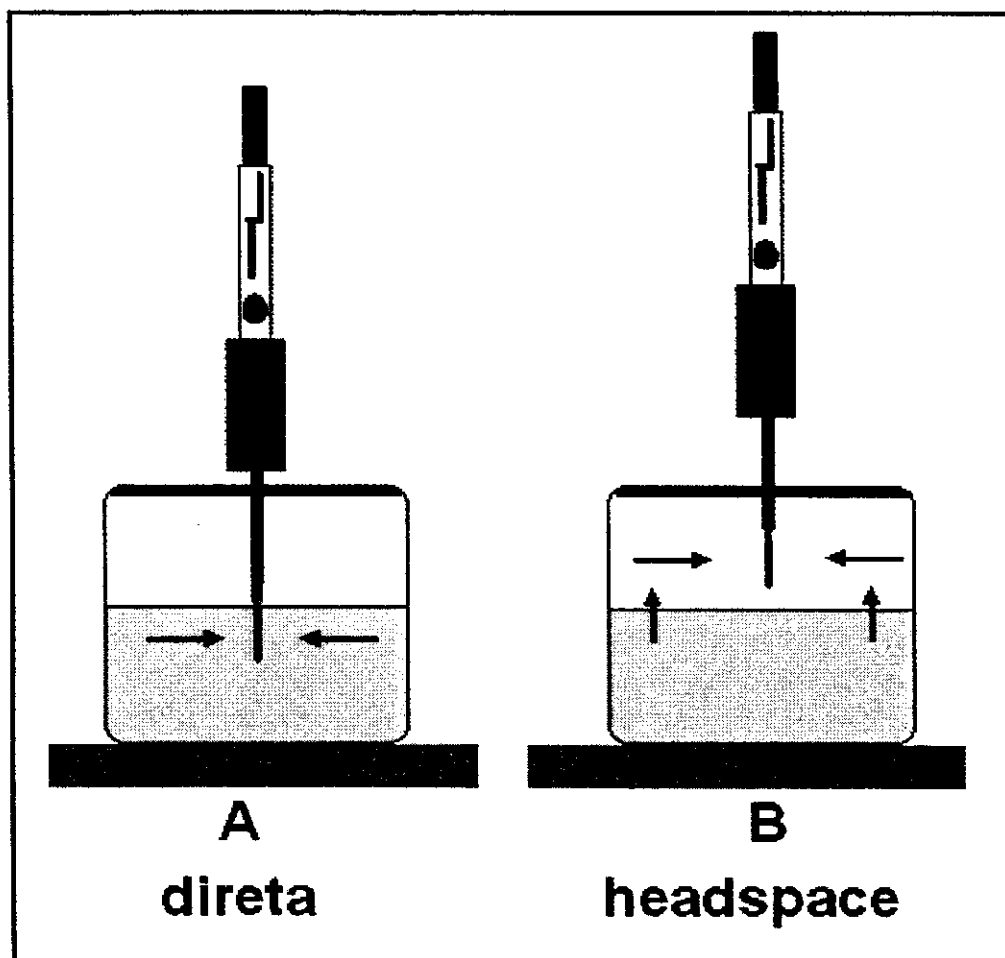
As sugestões desta tabela são necessariamente genéricas, pois as fibras relacionadas foram desenvolvidas para uso geral e potencialmente são úteis em muitas aplicações. Tipicamente, a natureza química de um analito que se deseja extrair determina o tipo de revestimento a ser usado.

### 1.4.3 Modos de extração.

Para SPME, dois modos básicos podem ser usados para extração de analitos: extração direta ou extração no modo *headspace*. Na extração direta o revestimento da fibra é inserido diretamente dentro da amostra e os analitos são transportados da amostra matriz para a fase polimérica. Entretanto, este procedimento de extração direta somente pode ser realizado quando não há possibilidade de danos ao material sorvente causado pelo contato direto com a amostra. Alguns artifícios como agitação com barra magnética, sonicação ou movimentos rápidos da fibra ou do frasco da amostra podem facilitar na extração aumentando a velocidade de difusão do analito da amostra para dentro da fibra.

No modo de extração através do *headspace* a fibra é exposta à fase gasosa acima da amostra. Este modo é ideal nos casos em que os analitos sejam suficientemente voláteis na temperatura de extração escolhida, evitando danos à fibra causados por contato direto com a matriz e facilitando modificações do meio como pH, força iônica, etc.

A quantidade de analito extraída pelo revestimento no mesmo frasco no equilíbrio usando amostragem direta ou *headspace* são idênticas, contanto que a amostra e o volume da fase gasosa seja o mesmo. Isto é causada pelo fato que no equilíbrio a concentração nas fases presentes (matriz, *headspace* e recobrimento) é independente da locação da fibra no sistema amostra/*headspace*. A Figura 3 ilustra os modos de extrações existentes.



**Figura 3:** Modos de extração para SPME: A) extração direta; B) extração no modo *headspace*.<sup>11</sup>

#### 1.4.4 Teoria da SPME.

A massa de um analito extraída pelo revestimento polimérico é definida pelo equilíbrio total das espécies entre as três fases do sistema: amostra, *headspace* e o recobrimento da fibra. Como a massa total de um analito deve permanecer a mesma durante o processo de extração, tem-se:

$$C_0V_a = C_f^\infty V_f + C_h^\infty V_h + C_a^\infty V_a \quad \text{Equação – 1}$$

onde:  $C_0$  é a concentração inicial do analito na amostra matriz;  $C_f^\infty$ ,  $C_h^\infty$  e  $C_a^\infty$  são as concentrações de equilíbrio do analito no revestimento, no *headspace*, e na amostra matriz, respectivamente;  $V_f$ ,  $V_h$ , e  $V_a$  são os volumes do revestimento, do *headspace*, e da amostra matriz, respectivamente. Se definirmos as constantes de distribuição de revestimento da fibra/*headspace* como  $K_{fh} = C_f^\infty / C_h^\infty$  e a constante do *headspace*/amostra matriz como  $K_{ha} = C_h^\infty / C_a^\infty$ , a massa do analito sorvida pelo revestimento,  $n = C_f^\infty V_f$ , pode ser expressa como:

$$n = \frac{K_{fh} K_{ha} V_f C_0 V_a}{K_{fh} K_{ha} V_f + K_{ha} V_h + V_a} \quad \text{Equação - 2}$$

A própria expressão para a constante de distribuição deveria envolver as atividades apropriadas, mas as concentrações são uma boa aproximação considerando os níveis reduzidos dos analitos na amostra e assumindo uma matriz limpa. A direção das forças para o equilíbrio multifase é dada pela diferença entre o potencial químico dos analitos nas três fases. O potencial químico de um analito no *headspace* pode ser expresso como:

$$\mu_h = \mu^0(T) + RT \ln \left( \frac{p_h}{p^0} \right) \quad \text{Equação - 3}$$

onde  $\mu_h$  é o potencial químico do analito no *headspace*;  $p_h$  é a pressão de vapor do analito no *headspace*; e  $\mu^0(T)$  é o potencial químico do analito na pressão padrão  $p^0$  (normalmente  $p^0 = 101,323 \text{ kPa}$  e na temperatura  $T$ ). Enquanto isso, o potencial químico dos analitos no revestimento e na amostra matriz pode ser expresso como:

$$\mu_f = \mu^0(T) + RT \ln \left( \frac{p_f}{p^0} \right) \quad \text{Equação - 4}$$

$$\mu_a = \mu^0(T) + RT \ln \left( \frac{p_a}{p^0} \right) \quad \text{Equação - 5}$$

onde  $\mu_f$  e  $\mu_a$  são os potenciais químicos do analito no revestimento e na amostra matriz, respectivamente; e  $p_f$  e  $p_a$  são as pressões de vapor do analito no equilíbrio com o analito no revestimento e na amostra matriz.

Quando as três fases do sistema estão em equilíbrio, os potenciais químicos dos analitos são iguais nas três fases:

$$\mu_f = \mu_h = \mu_a \quad \text{Equação - 6}$$

Das equações 3, 4 e 6 pode-se obter:

$$p_f = p_h = p_a \quad \text{Equação - 7}$$

De acordo com a lei de Henry, nos temos:

$$p_f = K_F C_f^\infty \quad \text{Equação - 8}$$

$$p_a = K_H C_a^\infty \quad \text{Equação - 9}$$

onde  $K_F$  e  $K_H$  são constantes da lei de Henry do analito no filme polimérico e do analito na matriz aquosa, respectivamente. Assumindo que a lei dos gases ideais  $p_h V_h = n_h RT$  ( $n_h$  é o número de moles do analito no *headspace*) é válida para o analito vapor no *headspace*:

$$p_h = C_h^\infty RT$$

Equação – 10

Das equações 7 e 10, pode-se facilmente correlacionar a constante de distribuição com as constantes de Henry:

$$K_{fh} = \frac{C_f^\infty}{C_h^\infty} = \frac{RT}{K_F}$$

Equação – 11

$$K_{ha} = \frac{C_h^\infty}{C_a^\infty} = \frac{K_H}{RT}$$

Equação – 12

Neste caso para extração direta em solução aquosa, tem-se no equilíbrio:  $\mu_f = \mu_a$  ou  $p_f = p_a$ . A constante de distribuição do analito entre o filme polimérico e a solução aquosa,  $K_{fa}$ , pode ser expressa como  $K_{fa} = C_f^\infty / C_a^\infty = K_H / K_F$  sendo  $p_f = K_F C_f^\infty$ ,  $p_a = K_H C_a^\infty$ , e  $p_f = p_a$  quando o equilíbrio é estabelecido. Com base nas equações 11 e 12, temos que:

$$K_{fa} = \frac{K_H}{K_F} = K_{fh} K_{ha} = K_{fg} K_{ga}$$

Equação – 13

Assim considerando-se que a umidade do *headspace* é desprezível, a constante de distribuição fibra/*headspace*,  $K_{fh}$ , pode ser substituída pela constante de distribuição fibra/gás,  $K_{fg}$  e a constante de distribuição *headspace*/amostra,  $K_{ha}$ , pela constante de distribuição gás/amostra,  $K_{ga}$ . Desta forma, a equação 2 pode ser reescrita como:

$$n = \frac{K_{fa} V_f C_0 V_a}{K_{fa} V_f + K_{ha} V_h + V_a}$$

Equação - 14

Assim, fica demonstrado que em condição de equilíbrio, a massa de analito extraída pela fibra é independente de sua localização no sistema. Esta pode estar localizada no *headspace* ou diretamente na amostra, contanto que o volume do *headspace*, volume do filme polimérico e o da amostra sejam mantidos constantes. Quando a amostra preencher totalmente o frasco, tem-se que  $K_{ha}V_h$  no denominador, que se relaciona com a capacidade do *headspace* ( $C_h^\infty V_h$ ), pode ser eliminada, resultando em:

$$n = \frac{K_{fa}V_f C_0 V_a}{K_{fa}V_f + V_a} \quad \text{Equação – 15}$$

Tem-se que a massa extraída  $n$  de um analito é proporcional à sua concentração  $C_0$  na amostra, sendo esta a base do uso quantitativo da SPME. A extração é considerada completa quando a concentração dos analitos alcança o equilíbrio de distribuição entre a matriz da amostra e o filme polimérico da fibra.<sup>11,13</sup>

### 1.4.5 A Cinética da SPME.

Em SPME, a cinética do processo de extração é baseada na segunda lei de difusão de Fick, que em sua forma unidimensional pode ser expressa como:

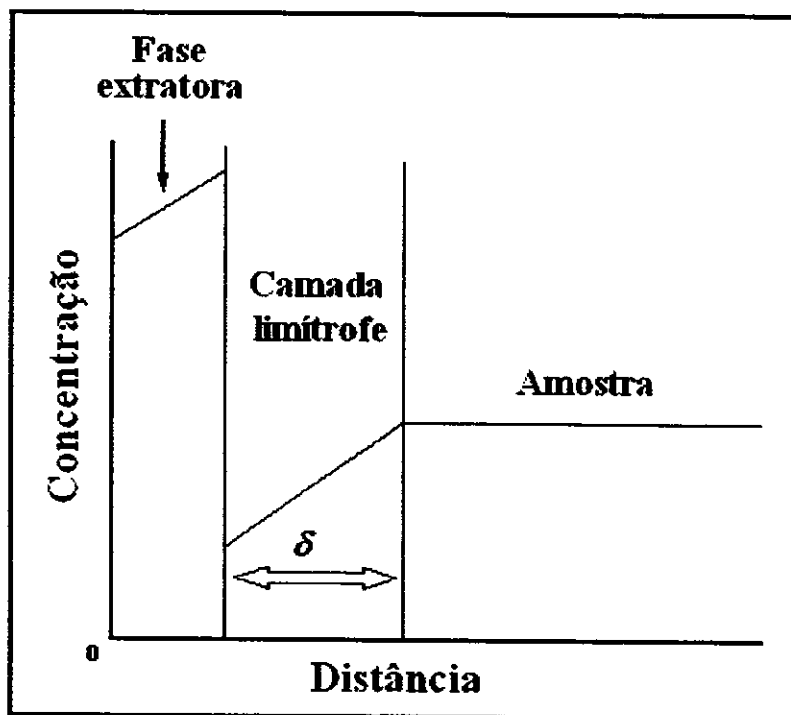
$$\frac{\partial C}{\partial t} = D \frac{\partial^2 C}{\partial x^2} \quad \text{Equação – 16}$$

onde  $C$  é a concentração e  $D$  o coeficiente de difusão do analito. Considerando a geometria cilíndrica da fibra e o sistema de amostragem no espaço tridimensional tem-se que:

$$\frac{\partial C}{\partial t} = D \frac{1}{r} \left[ \frac{\partial}{\partial r} \left( r \frac{\partial C}{\partial r} \right) \right] \quad \text{Equação – 17}$$

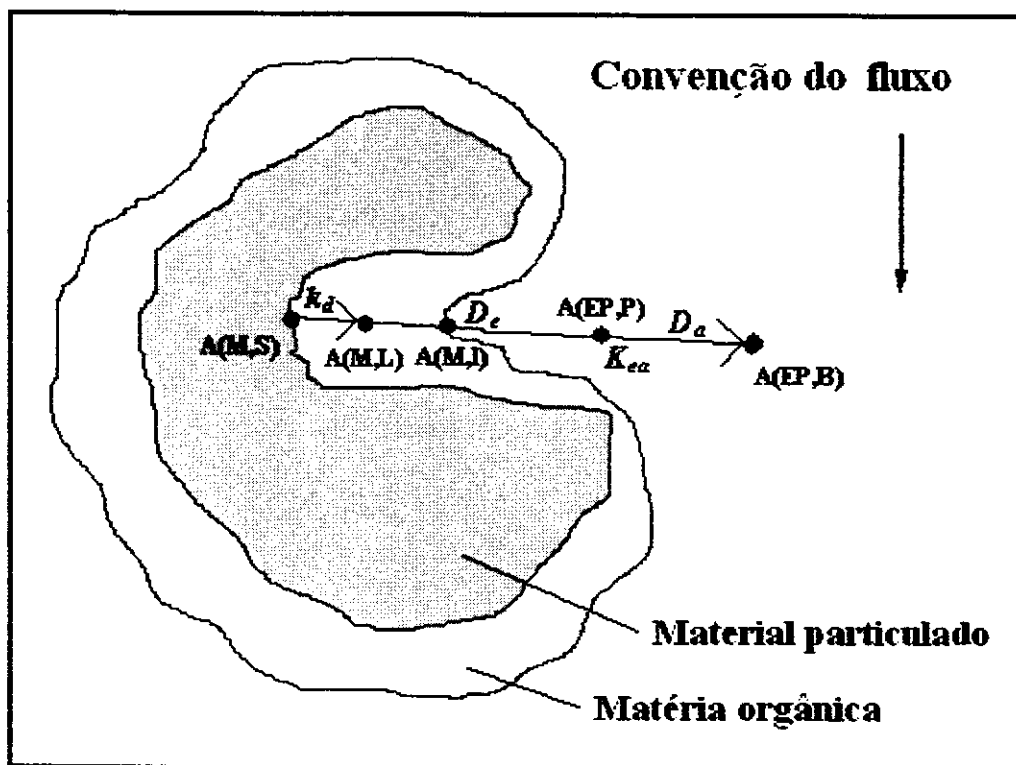
A resolução exata desta equação diferencial dependeria de conhecimentos do valor de coeficiente de difusão e definição de alguns valores limites. De qualquer modo, sob condições de agitação perfeita, a velocidade do processo de absorção dos analitos no filme polimérico dependeria apenas da difusão do analito no mesmo.

Nos modelos tradicionais, pode-se assumir a existência de uma zona adjacente à fase extratora, na qual a convecção é limitada (devido à condição estática desta região, forçada pela viscosidade da matriz) e o transporte de massa é exclusivamente difuso. Esta camada estática é chamada de camada limítrofe de Prandtl (ou camada limite). A Figura 4 mostra a representação dessa camada limite em volta de uma fase extratora.



**Figura 4:** Modelo de camada limítrofe ( $\delta$  = espessura da camada limítrofe).<sup>11</sup>

A situação é mais complexa quando sólidos estão presentes como parte de uma amostra (por exemplo, como particulados em suspensão). Pode-se assumir que as partículas de sólido contêm uma camada orgânica depositada sobre um núcleo impermeável e poroso, e o analito está adsorvido sobre uma superfície desse poro. Neste caso, o processo de extração pode ser modelado por considerações de vários passos básicos, como mostra a Figura 5. Para remover o analito da partícula o composto deve primeiro ser dessorvido da superfície A(M,S); e então difundir através da camada orgânica A(M,L) sem a partícula até alcançar a interface matriz/fluido (A(M,I)). Neste momento, o analito pode ser solvatado pela fração líquida da matriz ou pela fase extratora A(EP,P). Ele deve então difundir através da camada estática presente no interior do poro para alcançar a porção da fase extratora ou matriz que é afetada por convecção. O analito pode então ser transportado através dos canais entre as partículas, eventualmente, alcançando a fase extratora A(EP,B).



**Figura 5:** Processos envolvidos na extração de amostras heterogêneas que contêm partículas sólidas porosas.  $K_{ea}$  é a constante de distribuição fase extratora/amostra matriz,  $k_d$  é a razão da constante de dissociação do analito – matriz complexa, e  $D_a$  e  $D_e$  são difusão do analito na amostra matriz e fase extratora, respectivamente.<sup>4</sup>

### 1.4.6 Aplicações da SPME.

Desde seu desenvolvimento,<sup>8</sup> SPME vem sendo utilizada em diversos tipos de matrizes ambientais, farmacêuticas, clínicas, na indústria alimentícia, etc. Alguma de suas vantagens na aplicação a amostras diversas em relação a outras técnicas de extração e pré-concentração seriam a rapidez na análise, simplicidade, alta sensibilidade, compatibilidade com outros equipamentos analíticos, possível automação, uso em amostragem de campo e livre do uso de solventes.<sup>8,11</sup>

Dentre as aplicações em análises de amostras de interesse ambiental podem ser listados trabalhos com compostos orgânicos voláteis,<sup>14,15</sup> hidrocarbonetos aromáticos (PAH),<sup>16</sup> herbicidas,<sup>17,18</sup> pesticidas,<sup>19</sup> fungicidas,<sup>20</sup> ésteres de ácido ftálico,<sup>21-23</sup> substâncias com atividade biológica,<sup>24</sup> dentre outras. Para muitos desses contaminantes, técnicas como a LLE, manipulações dinâmicas de HS e SPE são tradicionalmente utilizadas nas etapas de extração e pré-concentração; SPME se revelou como uma boa alternativa para estes procedimentos tradicionais.<sup>14</sup>

SPME também tem se popularizado em análises de aromas e fragrâncias.<sup>25</sup> Algumas de suas aplicações foram a caracterização da composição de *flavours* de alimentos industrializados como sucos e polpa de frutas,<sup>26-29</sup> café,<sup>30,31</sup> produtos lácteos,<sup>32</sup> condimentos,<sup>33</sup> bebidas destiladas,<sup>34</sup> etc., assim como na determinação de contaminantes e aromas desagradáveis (*off-flavours*) nos mesmo.<sup>34-38</sup>

Outra área de interesse para SPME seria na análise de amostras clínicas e forenses, envolvendo matrizes como plasma, soro, urina e sangue integral em determinações de drogas, substâncias tóxicas, esteróides. Por serem matrizes muito complexas, muitas vezes são necessárias etapas de pré-tratamento da amostra, como desproteinização, especialmente em processos envolvendo imersão direta da fibra na

amostra. A derivatização muitas vezes se torna necessária quando analitos de baixa volatilidade estão presentes, o que possibilita sua extração ao *headspace*.<sup>39</sup>

Muitos compostos de pouca volatilidade (produtos farmacêuticos, drogas, peptídeos e proteínas, alguns pesticidas e hidrocarbonetos poliaromáticos (PAH)) que são melhores separados por HPLC, e aplicações combinando esta técnica com SPME tem aparecido freqüentemente na literatura.<sup>39-41</sup> O primeiro sistema para acoplamento de SPME a HPLC com detecção por ultra violeta (UV)<sup>42</sup> consistia em uma câmara de dessorção por solvente e uma válvula de seis vias acopladas ao cromatógrafo a líquido, para determinação de PAH. Todavia, como este processo de dessorção é lento ele pode ocasionar problemas na resolução do sinal analítico (alargamento de pico). Uma alternativa seria a dessorção *off-line* proposta por Popp et al.,<sup>43</sup> sem a necessidade da câmara de dessorção. Após a extração dos analitos de interesse, faz-se a dessorção dos mesmos, por imersão da fibra em frascos cônicos com pequenas quantidades de solventes (100 µL) miscíveis com a fase móvel, ou então com a própria fase utilizada para separação. Uma alíquota do extrato é então injetada no cromatógrafo a líquido da forma convencional. Salleh et al.,<sup>44</sup> construíram um sistema de dessorção empregando fluidos supercríticos. Entretanto, este sistema pode apresentar problemas devido a vazamentos causados pela alta pressão aplicada, além da necessidade de otimização cuidadosa do tempo de dessorção.

Além do uso em análises cromatográficas, a SPME também tem sido associada a técnicas espectrométricas para determinação de compostos organometálicos. Meste et al.,<sup>45</sup> combinaram SPME e Espectrometria de Massas com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP-MS) para determinação de organomercúrios. Para o acoplamento direto foi utilizado um bloco de alumínio aquecido contendo um liner de vidro similar aos utilizados em injetores de GC, conectado diretamente à base da tocha do ICP. Amostras de metilmercúrio foram derivatizadas por alquilação

e extraídas tanto no *headspace* como por imersão direta da fibra em solução. A combinação resultou em baixos limites de detecção ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) e boa precisão.

SPME também foi acoplada com Espectrometria de Absorção Atômica (AAS) para a determinação de espécies metálicas voláteis.<sup>46</sup> Uma câmara de dessorção foi projetada e por aquecimento, um fluxo de gás ( $\text{N}_2$ ) contínuo, arrasta analitos voláteis extraídos para dentro de um forno de quartzo aquecido ( $1000\text{ }^\circ\text{C}$ ) onde o sinal de transmissão e absorção dos analitos é observado. Com este sistema, quantificou-se tricarbonil metilciclopentadienilmanganês (MMT) em amostras de água e gasolina. Assim como em SPME-ICP-MS a SPME-AAS também apresenta baixos limites de detecção ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ), porém a eficiência de recuperação foi muito baixa.

Uma propriedade fundamental da SPME é que na partição do analito entre o revestimento da fibra e amostra, a concentração depende da constante do equilíbrio envolvido, que por sua vez é função do analito, tipo de fibra e temperatura.<sup>47</sup> Infelizmente, para muitos compostos o tempo de equilíbrio pode ser longo, chegando a horas. Assim, o estudo e o desenvolvimento de amostradores de ar ambiente<sup>48,49</sup> e de modelos matemáticos<sup>50</sup> que descrevam a quantificação de compostos após extração por SPME, mas sem a necessidade de atingir o equilíbrio, tem sido proposto. Para muitos desses estudos, os tempos de extração são de aproximadamente 1 min. Nestes casos, a eficiência de massa extraída é dependente do coeficiente de difusão de cada analito no ar e no recobrimento da fibra (controle cinético de extração).<sup>46-51</sup>

O preparo, a modificação de fibras e o desenvolvimento de novos materiais sorventes a partir de processo sol-gel também tem sido de interesse em SPME na busca de maior eficiência, seletividade na extração e estabilidade térmica do recobrimento sobre a fibra de sílica.<sup>9,52-60</sup>

# **CAPÍTULO II**

## ***AMOSTRAGEM EM HEADSPACE DINÂMICO COMBINADA COM MICROEXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA (DHS-SPME)***

## 2.1 INTRODUÇÃO.

A amostragem em HS por SPME (HS-SPME) tem sido extensivamente estudada na literatura e aplicada a diversos tipos amostras. Esse procedimento convencional de amostragem por HS-SPME envolve a exposição da fibra ao *headspace* de uma amostra em um frasco selado, no qual onde dois processos de transferência de massa ocorrem: da amostra para o *headspace* e entre o *headspace* para o revestimento da fibra. Sabe-se que a quantidade de analito extraída na fibra é proporcional a sua concentração na amostra, quando os equilíbrios de distribuição dos analitos nas três fases forem estabelecidos. Para se adquirir um equilíbrio rápido entre as três fases e uma diminuição do tempo de amostragem, podem ser realizados agitação ou qualquer outro tipo de perturbação na amostra resultando em uma rápida transferência de massa da amostra para o *headspace*.<sup>8</sup>

A agitação magnética é fácil e simples para amostras aquosas, mas quando a amostra é um líquido viscoso, ou um sólido, esta aplicação se torna ineficiente ou impossível, resultando em baixa velocidade na transferência de massa entre as fases e a necessidade de tempos excessivos para a extração.<sup>61</sup> Braggins et al.,<sup>62</sup> propuseram que um fluxo de gás passando continuamente sobre a amostra e expondo-se uma fibra de SPME a este fluxo enriquecido com o gás, pode-se aumentar a sensibilidade, precisão e exatidão em análises à matrizes muito complexas.

Assim, com base nesse conceito, foi desenvolvido um dispositivo combinando amostragem por *headspace* dinâmico e SPME (DHS-SPME). Serão discutidas sua montagem, caracterização e sua aplicação a amostras diversas.

## 2.2 MATERIAIS E MÉTODOS.

### 2.2.1 Equipamentos.

- Cromatógrafo a Gás HP-6850, da Agilent Technologies, Wilmington - DE, equipado com detector por ionização em chama, injetor tipo *split/splitless* com liner para SPME de  $\varnothing = 0,7$  mm, coluna cromatográfica capilar de polidimetilsiloxano HP-1 (Agilent Technologies,  $L = 30$  m x  $d_i = 0,32$  mm x  $d_f = 0,25$   $\mu$ m), e controle e tratamento de dados pelo software HP ChemStation;
- Agitador magnético da Barnstead/Thermolyne (Iowa, USA) para extrações em HS;
- Manta de aquecimento da Barnstead/Thermolyne (Iowa, USA);
- Bomba peristáltica da (Ismatec – Switzerland)
- Bomba para aquários de 1,5 W (Elite 799, Rolfc Hagen Corp., Malaysia).

### 2.2.2 Fibras de SPME.

- Fibras recobertas com 100  $\mu$ m de polidimetilsiloxano (PDMS), 75  $\mu$ m de Carboxen / PDMS e 65  $\mu$ m de PDMS / divinilbenzeno (PDMS / DVB) foram obtidas da Supelco Inc., (Bellefont – PA, EUA). As fibras foram condicionadas conforme indicações do fabricante. Além disso, usou-se também um holder para SPME da Supelco.
- Frascos de 16 mL com septo de teflon e tampas de rosca foram usados nas extrações por HS-SPME convencional.

### 2.2.3 Reagentes.

- Clorobenzeno, 98 % (Fluka Chemika, Westchester);
- *o*-xileno, (Carlo Erba, Milão – Itália);
- Decano, 99 % (Aldrich, USA);
- Tolueno, 99 % (Vetec, Brasil);
- Benzeno, 99,5 % (Reagen Spetra, Brasil);
- Etilbenzeno, (Fluka Chemika, Westchester);
- $\gamma$ -terpineno, 97 %, (Aldrich, USA);
- NaCl, 99 %, (Synth, Brasil);
- Água desionizada, sistema Milli-Q Plus (Millepore);
- Metanol, (Tedia, Rio de Janeiro, Brasil);
- 2-metilpirazina, (Aldrich; USA);
- 2,5-dimetilpirazina, (Aldrich; USA);
- 2,3-dimetilpirazina, (Aldrich; USA);
- 2,3,5-trimetilpirazina, (Aldrich; USA);
- Tetrametilpirazina, (Aldrich; USA);

### 2.2.4 Dispositivo para amostragem em *Headspace* Dinâmico por SPME (DHS-SPME).

Para a montagem do dispositivo foram utilizados:

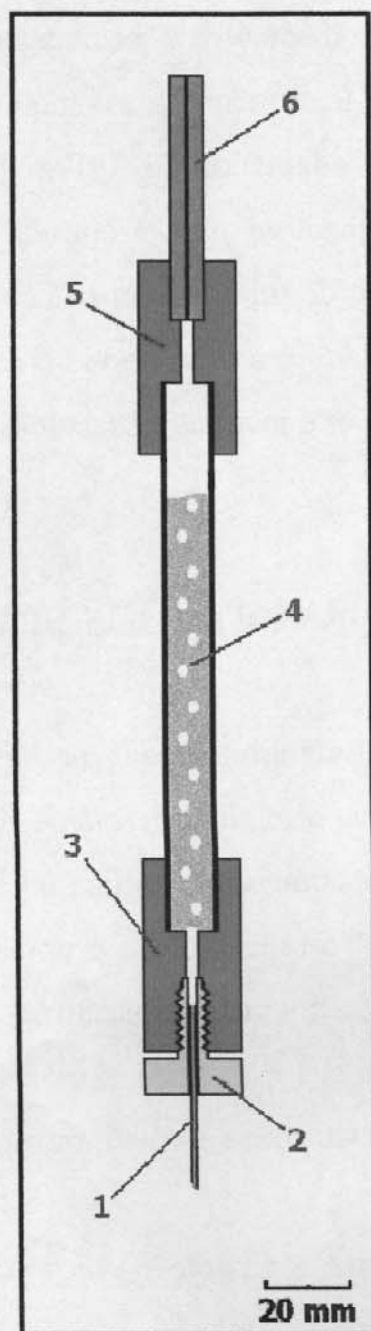
- Frita de aço;
- Rotâmetro, com vazão de 0 a 37 mL min<sup>-1</sup>, Supelco Inc., (Bellefont – PA, EUA);
- Válvula interruptora manual para controle de gás (Toggle valve, Supelco);
- Gás de *stripping* N<sub>2(g)</sub>;

- Tubo de vidro de  $L = 125 \text{ mm}$  x  $d_i = 9 \text{ mm}$ ;
- Tubo de vidro de  $L = 30 \text{ mm}$  x  $d_i = 9 \text{ mm}$ ;
- Tubo de silicone  $L = 20 \text{ cm}$  x  $d_e = 3,3 \text{ mm}$  x  $d_i = 0,7 \text{ mm}$ ;
- Tubo de Teflón  $L = 34 \text{ cm}$  x  $d_i = 0,03 \text{ cm}$  x  $d_e = 0,7 \text{ mm}$ ;
- Tubo de vidro obtido de microseringa para GC,  $L = 50 \text{ mm}$  x  $d_o = 8 \text{ mm}$  x  $d_i = 1,2 \text{ mm}$ .

As seguintes peças foram usinadas na oficina de mecânica fina do Instituto de Química da Unicamp:

- Duas peças de Teflon de  $L = 40 \text{ mm}$  x  $d_e = 22 \text{ mm}$  e  $d_o = 9 \text{ mm}$  para a base inferior x  $d_o = 12 \text{ mm}$  superior;
- Rosca de Teflon de  $L = 25,2 \text{ mm}$  x  $d_i = 19,3 \text{ mm}$  x  $d_o = 0,7 \text{ mm}$ ;
- Rosca de Teflon de  $L = 25,2 \text{ mm}$  x  $d_i = 19,3 \text{ mm}$  x  $d_o = 3,3 \text{ mm}$ .

A Figura 6 apresenta o esquema básico do dispositivo de DHS-SPME projetado e montado:



**Figura 6:** Sistema DHS-SPME. 1 – Tubo de silicone; 2 – Peça de Teflon para conexão; 3 – Peça de Teflon; 4 – Tubo de vidro para amostra; 5 – Conexão para cela de extração através de fluxo; 6 – Cella de extração através de fluxo. Não são mostrados rotâmetro, frita e válvula interruptora manual.

Para a montagem do dispositivo, foi conectada a frita de aço ao rotâmetro no sentido de entrada do gás (nitrogênio) para melhor controle de vazão. Ao tubo de vidro (4) é conectado ao adaptador de Teflon (3). Um tubo de silicone (1) foi conectado na base do dispositivo para a entrada do gás de *stripping* na rosca de teflon (2). Na parte superior do tubo de amostra (4) foi conectado outro adaptador de teflon (5) ao qual foi adaptado um tubo de vidro (corpo de microseringa). O tubo de vidro (6) age como cela de extração: as fibras de SPME são expostas ao gás que flui em seu interior.

### 2.2.5 Dispositivo portátil de DHS-SPME.

Duas modificações foram realizadas no dispositivo básico de DHS-SPME mostrado anteriormente. Na primeira, o rotâmetro e válvula interruptora manual, foram substituídos por uma bomba peristáltica para propulsão de ar ambiente como gás de *stripping*. Na segunda modificação, a propulsão do ar foi feita por uma bomba de ar para aquários (1,5 W), alimentada por corrente proveniente de transformadores de 15 V a 48 V, para obtenção de vazões variadas próximas as estudadas com as versões anteriores de rotâmetro com válvula interruptora e bomba peristáltica.

A Tabela 2 mostra uma comparação das vazões obtidas no sistema de DHS-SPME, em suas diversas versões.

**Tabela 2:** Comparação de vazões obtidas nas diferentes versões do sistema de DHS-SPME.

| Rotâmetro + N <sub>2(g)</sub> | Bomba peristáltica + ar     | Bomba de aquário + ar       |               |
|-------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|---------------|
| $F$ (mL min <sup>-1</sup> )   | $F$ (mL min <sup>-1</sup> ) | $F$ (mL min <sup>-1</sup> ) | Transformador |
| $3 \pm 0,2^a$                 | $3 \pm 1,7^a$               | $2,7 \pm 1,5^a$             | 15 V          |
| $4,5 \pm 0,3$                 | -                           | -                           | -             |
| $6 \pm 0,3$                   | $6 \pm 3,5$                 | $7,2 \pm 1,7$               | 24 V          |
| $9,5 \pm 0,2$                 | -                           | -                           | -             |
| $12 \pm 0,3$                  | $12 \pm 2,9$                | $13,2 \pm 0,6$              | 36 V          |
| -                             | $24 \pm 1,7$                | $23,6 \pm 4,1$              | 48 V          |

**Nota:**  $F$  = vazão de gás de *stripping* (mL min<sup>-1</sup>);  $a$  = estimativa do desvios padrão relativo (%) (n=3).

### 2.2.6 Ensaios com aquecimento do gás de *stripping*.

Para estes ensaios, entre a bomba de aquário ou bomba peristáltica foi adaptado um tubo de silicone a outro de teflon de pequeno diâmetro ( $L = 34$  cm x  $d_i = 0,3$  mm x  $d_e = 0,7$  mm) que foi mergulhado em um béquer contendo água a  $70 \pm 1$  °C, para o aquecimento do ar e sua entrada no dispositivo. O tubo de teflon de menor diâmetro interno evita a entrada de materiais particulados não ocasionando problemas quanto à limpeza, troca do tubo e possíveis contaminações.

### 2.2.7 Caracterização analítica inicial do dispositivo DHS-SPME.

Uma solução aquosa contendo ( $500 \mu\text{g L}^{-1}$ ) clorobenzeno, *o*-xileno, decano, tolueno, benzeno, etilbenzeno e  $\gamma$ -terpineno de cada analito foi utilizada para caracterização da versão básica do dispositivo DHS-SPME. Aliquotas de 5 mL desta solução foram extraídas com a utilização de uma fibra de SPME de 100  $\mu\text{m}$  de PDMS em tempos de extrações de 0,5 a 10 min e com vazões de gás de *stripping* de 3 a 12  $\text{mL min}^{-1}$ . Em paralelo também foram realizadas extrações por HS-SPME convencional, para comparação. Os tempos de pré-equilíbrio (5 min) e de extração (5 min) foram determinados preliminarmente, extraindo alíquotas de 5 mL da solução de teste acondicionadas em frascos de 16 mL sob agitação de 1200 rpm. Os analitos extraídos tanto por DHS-SPME como para HS-SPME foram imediatamente dessorvidos por 10 min no injetor do cromatógrafo durante a corrida. As condições de separação cromatográfica foram  $T_{\text{INJ}} = 250\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $T_{\text{DET}} = 250\text{ }^{\circ}\text{C}$  e  $T_{\text{COL}} = 70\text{ }^{\circ}\text{C} \rightarrow 4\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1} \rightarrow 85^{\circ}\text{C} \rightarrow 6\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1} \rightarrow 130\text{ }^{\circ}\text{C}$ ; injetor em modo *splitless* por 10 min. No Apêndice A são mostradas as estruturas e características destes compostos utilizados na caracterização do dispositivo.

A eficiência relativa das extrações realizadas com o dispositivo de DHS-SPME foi calculada de acordo com a equação:

$$E = 100 \times \frac{A_{\text{DHS}}}{A_{\text{HS}}} \quad \text{Equação – 18}$$

onde  $E$  é a eficiência de extração,  $A_{\text{DHS}}$  é a área do pico cromatográfico obtido por DHS-SPME e  $A_{\text{HS}}$  é a área do pico cromatográfico obtido por HS-SPME. Superfícies de resposta ( $E \times A_{\text{ext}} \times F$ ) foram construídas a partir destes dados.

Também foram construídas superfícies relacionadas à concentração esperada para cada analito no gás de *stripping* ( $C_G$ ) em relação ao tempo e vazão, de acordo com a equação:

$$C_G = \frac{C_L^0}{K[1 - (V_g/KV_L)]} \times \left[ \exp\left(-\frac{Ft_{ex}}{KV_L}\right) - \exp\left(-\frac{Ft_{ex}}{V_G}\right) \right] \quad \text{Equação – 19}^{61}$$

onde  $C_L^0$  é a concentração inicial do analito na amostra aquosa,  $F$  é a vazão do gás de *stripping*,  $t_{ex}$  é o tempo de extração,  $V_L$  é o volume da amostra,  $V_G$  é o volume do *headspace* no compartimento da amostra e  $K$  é o coeficiente de partição ar/água para cada analito ( $K = C_L/C_G$ ). O coeficiente  $K$  é o inverso da constante adimensional da Lei de Henry,<sup>66</sup> disponível na literatura.

A avaliação inicial de DHS-SPME foi complementada estimando-se curvas analíticas para concentrações de 50  $\mu\text{g L}^{-1}$  a 500  $\mu\text{g L}^{-1}$  dos analitos na solução teste empregando-se tempos de extrações e vazões de gás de purga selecionados das superfícies de resposta anteriormente determinadas.

Os limites de detecção para as curvas analíticas foram calculados pela equação 20:

$$LD = \frac{3s_b}{a} \quad \text{Equação (20)}$$

onde  $s_b$  é o desvio padrão do intercepto e  $a$  correspondente sensibilidade expressa por inclinação.<sup>64</sup>

### 2.2.8 Aplicação do dispositivo de DHS-SPME a amostras reais.

Após a caracterização do dispositivo com a solução aquosa de misturas testes constituídas por compostos orgânicos, foram realizadas a aplicação do dispositivo na extração de compostos voláteis nas seguintes amostras: polpa de manga, *líquor* de cacau, solo e folhas secas de hortelã.

Extrações em paralelo por HS-SPME, em frascos de 16 mL, também foram realizadas para comparação, determinando-se sempre o tempo de pré-equilíbrio amostras/HS e o tempo de extração fibra/HS.

### 2.2.9 Manga.

A versão básica do dispositivo de DHS-SPME foi aplicada na extração de compostos voláteis existentes em polpa de manga fresca e industrializada.

Mangas frescas foram obtidas de árvores no campus da Unicamp, e a polpa de manga concentrada congelada foi obtida em supermercado da região. No preparo da amostra para a extração dos voláteis as mangas frescas, foram lavadas, descascadas e homogeneizadas em liquidificador com adição de solução saturada de NaCl (36 %) (2:1 m/m); para a polpa industrializada, somente a adição de solução saturada de NaCl foi necessária.

Perfis de extrações por HS-SPME para os analitos selecionados foram obtidos com 5 mL de suspensão salina de polpa de manga fresca para determinação do tempo de pré-equilíbrio amostra/HS, e do tempo de extração fibra/HS. Nas extrações por DHS-SPME também foram utilizados 5 mL de suspensão salina adicionados a cela da amostra e as extrações realizadas em tempos de 1 a 15 min, com vazões de 3, 6 e 12 mL min<sup>-1</sup>. Todas as extrações foram realizadas utilizando-se a fibra de 100 µm de PDMS.

As condições de análise cromatográficas foram:  $T_{\text{INJ}} = 250\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $T_{\text{DET}} = 275\text{ }^{\circ}\text{C}$  e  $T_{\text{COL}} = 2\text{ min a } 40\text{ }^{\circ}\text{C} \rightarrow 10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1} \rightarrow 160\text{ }^{\circ}\text{C}$ , injetor em modo *splitless* por 10 min. No Apêndice A são mostradas as estruturas e algumas das características destes compostos.

### 2.2.10 *Líquor de cacau.*

A aplicação do dispositivo de DHS-SPME também foi avaliada na extração de alquilpirazinas em *líquor* de cacau. Nesta aplicação o rotâmetro e a válvula interruptora do gás foram substituídos pelo uso da bomba peristáltica para propulsão de ar como gás de *stripping*.

No preparo da amostra antes da extração, tabletes de *líquor* de cacau foram triturados sob gelo seco e deixados em descanso para evaporação do  $\text{CO}_2$  por 1 h. Alíquotas da amostra ( $4,2 \pm 0,2$ ) g foram acondicionadas na cela de extração, dopadas com 100  $\mu\text{L}$  de solução estoque 2-metilpirazina, 2,5-dimetilpirazina, 2,3-dimetilpirazina, 2,3,5-trimetilpirazina e tetrametilpirazina e extraídas com uma fibra de 75  $\mu\text{m}$  de Carboxen/PDMS, com tempo de extração de 20 min e vazão de gás de *stripping* (ar ambiente) de  $12\text{ mL min}^{-1}$ . No Apêndice A são mostradas as estruturas e características destas pirazinas utilizadas.

Em paralelo, foram feitas extrações por HS-SPME, com tempos de extrações de 20 min. Em ambos os métodos, curvas analíticas na faixa de  $119\text{ ng g}^{-1}$  a  $1190\text{ ng g}^{-1}$  dos analitos foram construídas, e a recuperação avaliada por extração de amostras dopadas com  $238\text{ ng g}^{-1}$  e  $476\text{ ng g}^{-1}$ . Seis meses após a construção das curvas repetiu-se o ensaio de recuperação, com novas amostras e usando as mesmas curvas já obtidas antes. As condições de separação cromatográfica das alquilpirazinas foram:  $T_{\text{INJ}}$  a  $280\text{ }^{\circ}\text{C}$ ;  $T_{\text{DET}}$  a  $250\text{ }^{\circ}\text{C}$ ; gás de arraste He a  $3\text{ mL min}^{-1}$ ;

55 °C → 2 min; 5 °C min<sup>-1</sup> → 100 °C; 20 °C min<sup>-1</sup> → 180°C, injetor em modo *splitless* por 10 min.

### 2.2.11 Determinação de compostos orgânicos voláteis em solo.

A aplicação do dispositivo de DHS-SPME com utilização de bomba peristáltica para propulsão de ar como gás de *stripping* para extração de compostos orgânicos dopados em solo também foi realizada.

Uma amostra de solo da região ( $\pm$  500 g) foi obtida e peneirada em peneira de 100 *mesh* (d.p. <150  $\mu$ m), seca em estufa por 4 h e dopada com solução estoque contendo benzeno, tolueno, clorobenzeno, etilbenzeno e *o*-xileno. Três fibras foram utilizadas nestes ensaios: PDMS 100  $\mu$ m, Carboxen / PDMS 75  $\mu$ m e PDMS / DVB 65  $\mu$ m. Para escolha da melhor fibra, 1 g de solo dopado com 100 ng g<sup>-1</sup> da solução foi extraído por 10 min usando HS-SPME. Posteriormente perfis de extrações foram construídos e determinados os tempos de pré-equilíbrio amostra/HS e o tempo de extração fibra/HS.

Para extração por DHS-SPME uma modificação foi realizada na cela de amostragem (4), que foi diminuída para 30 mm para a adição de apenas 1 g de solo. Perfis de extrações com vazões de gás de *stripping* de 3 a 25 mL min<sup>-1</sup>, em tempos de extração de 0,5 a 10 min foram construídos.

As áreas cromatográficas obtidas nos tempos e vazões definidos nos perfis de extração foram normalizadas pela Equação 18. Posteriormente, curvas analíticas de 1 ng g<sup>-1</sup> a 20 ng g<sup>-1</sup> foram obtidas por DHS-SPME e HS-SPME para a comparação dos parâmetros das curvas analíticas. A adição e recuperação de 3 ng g<sup>-1</sup> foi realizada após um período de seis meses para obtenção dos percentuais de recuperação. A condições de análise cromatográfica foram: forno a 50 °C → 1 min; 1 °C min<sup>-1</sup> → 55

°C;  $15\text{ °C min}^{-1} \rightarrow 150\text{ °C}$ ;  $T_{\text{INJ}} 230\text{ °C}$  e  $T_{\text{DETC}} 250\text{ °C}$ , injetor em modo *splitless* por 10 min.

### 2.2.12 Voláteis em folhas secas de hortelã.

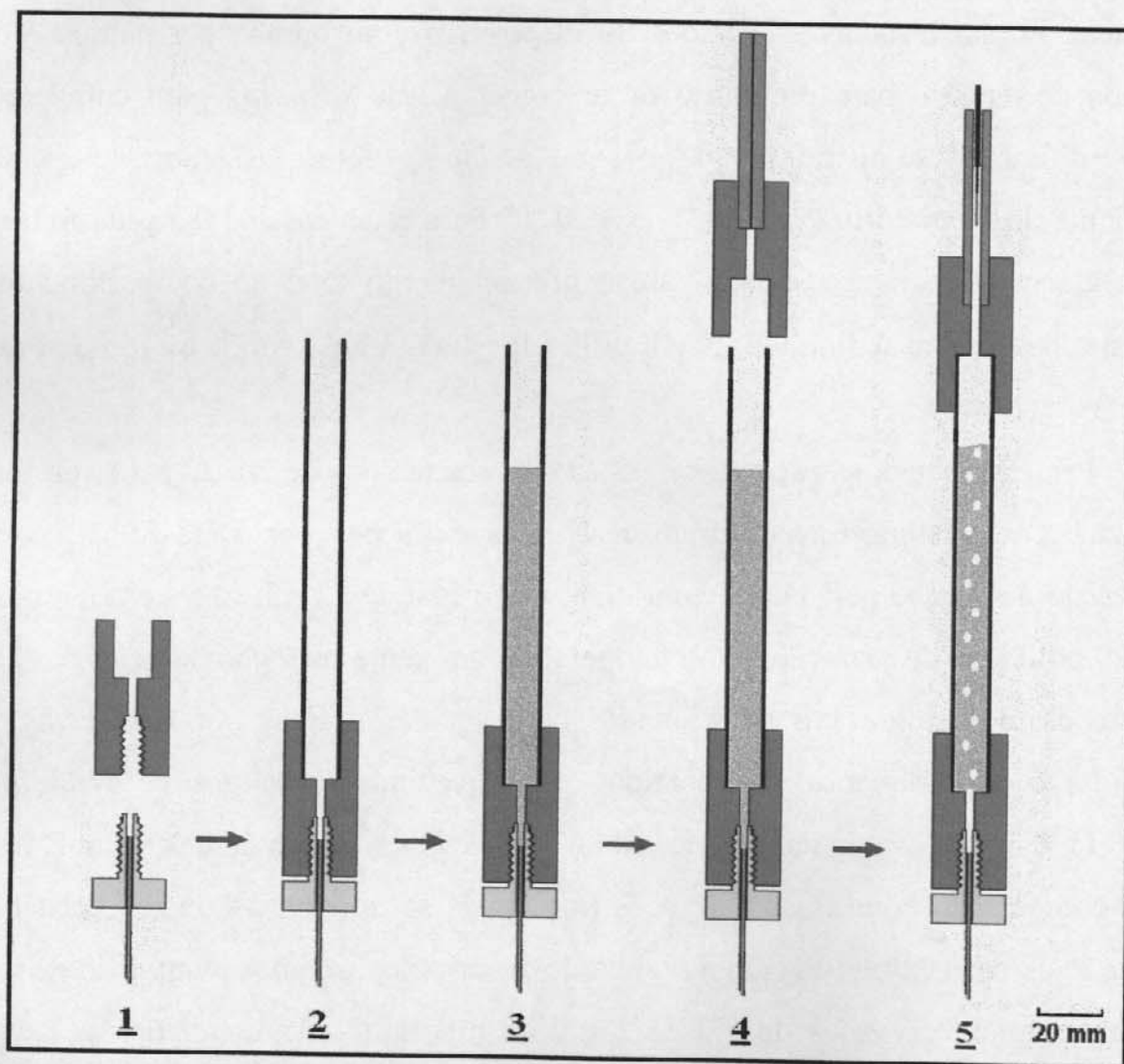
Folhas secas de hortelã trituradas foram obtidas para a extração dos compostos voláteis. Foram testadas as versões do dispositivo com bomba peristáltica e com bomba de aquário para propulsão de ar como gás de *stripping* para comparação. Duas diferentes temperaturas de gás de *stripping* foram testadas: temperatura ambiente do laboratório ( $25 \pm 2$ ) °C e a 70 °C. Para estes ensaios 0,5 g de folhas de hortelã secas foram necessárias para o preenchimento total do compartimento da amostra de 30 mm. A fibra de SPME utilizada para extração foi de 65 µm de PDMS / DVB.

Primeiramente, extrações por HS-SPME nos tempos de 10, 20 e 40 min foram realizadas, e posteriormente foram realizadas extrações por DHS-SPME com a utilização de bomba peristáltica com uma vazão fixa de  $12\text{ mL min}^{-1}$  em tempos de 10, 20 e 40 min de extração e sob temperatura ambiente para comparação das áreas dos picos cromatográficos selecionados com aquelas obtidas por HS-SPME. Em seguida, o procedimento foi repetido com aquecimento do gás de *stripping* a  $(70 \pm 1)\text{ °C}$  nos mesmos tempos de extração e vazões fixas de 6, 12 e  $20\text{ mL min}^{-1}$ . Para comparação com essas extrações (nas quais se utilizou a bomba peristáltica) foram realizadas extrações com a bomba de aquário nos mesmos tempos de extração e temperaturas, e vazões de 7,2 13,2 e  $23,6\text{ mL min}^{-1}$ . As condições de análise cromatográficas foram: forno a  $50\text{ °C} \rightarrow 1\text{ min}$ ;  $8\text{ °C min}^{-1} \rightarrow 70\text{ °C}$ ;  $4\text{ °C min}^{-1} \rightarrow 170\text{ °C}$ ;  $T_{\text{INJ}} 230\text{ °C}$  e  $T_{\text{DET}} 250\text{ °C}$ , injetor em modo *splitless* por 5 min. No Apêndice A são mostradas as estruturas dos compostos monitorados.

## 2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.

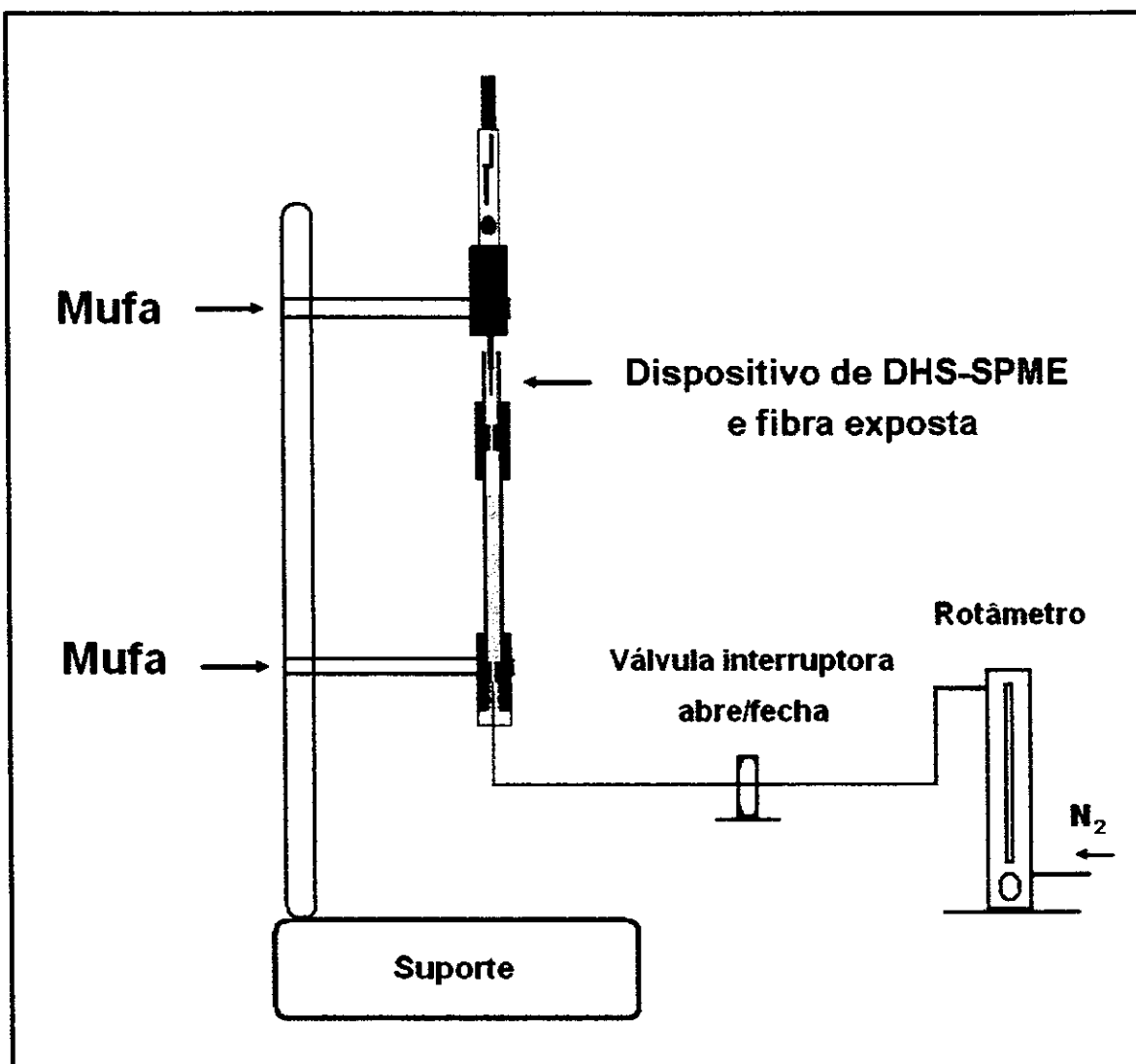
### 2.3.1 Montagem do dispositivo de DHS-SPME.

A Figura 7 mostra a montagem e operação do dispositivo de DHS-SPME.



**Figura 7:** Etapas de montagem do dispositivo de DHS-SPME. 1 – Fixação do tubo de entrada de gás de *stripping* na base; 2 – Inserção da cela de amostra; 3 – Preenchimento da cela de amostra; 4 – Adaptação da cela de extração e 5 – Passagem de gás com exposição da fibra na cela de extração.

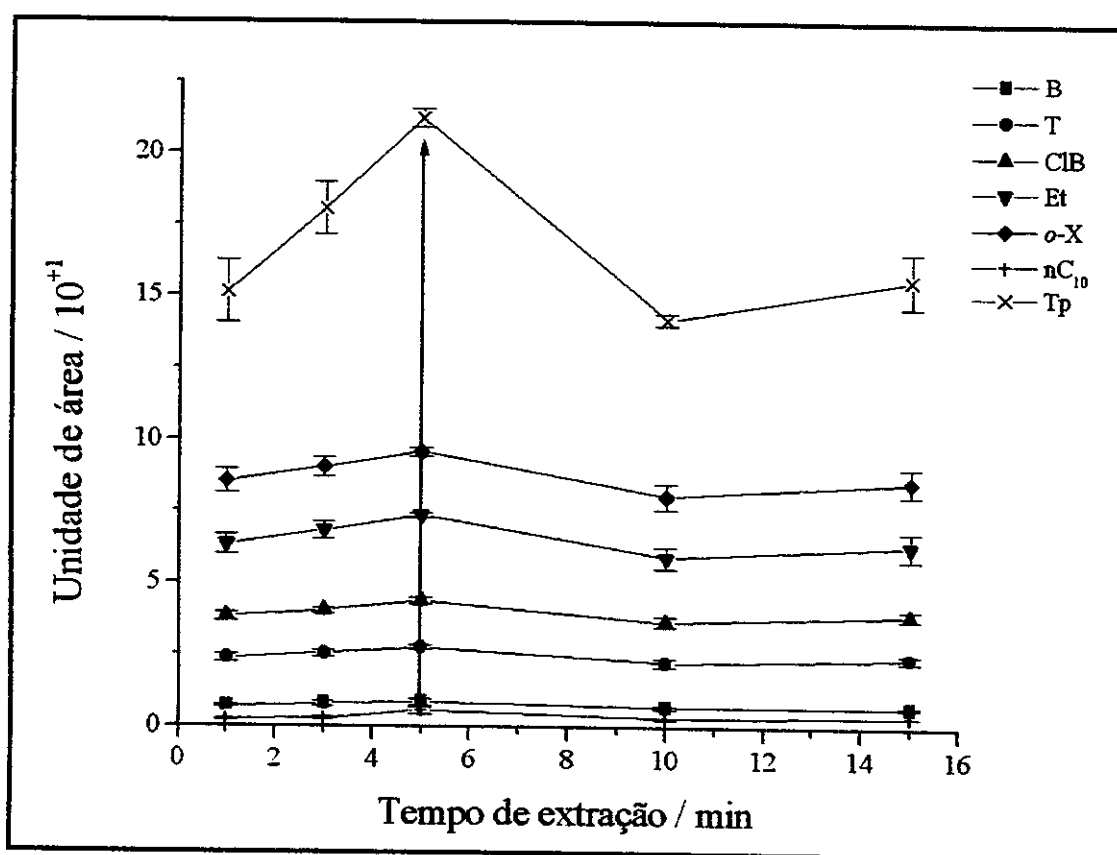
A Figura 8 mostra o esquema geral do sistema de DHS-SPME incluindo a linha de gás.



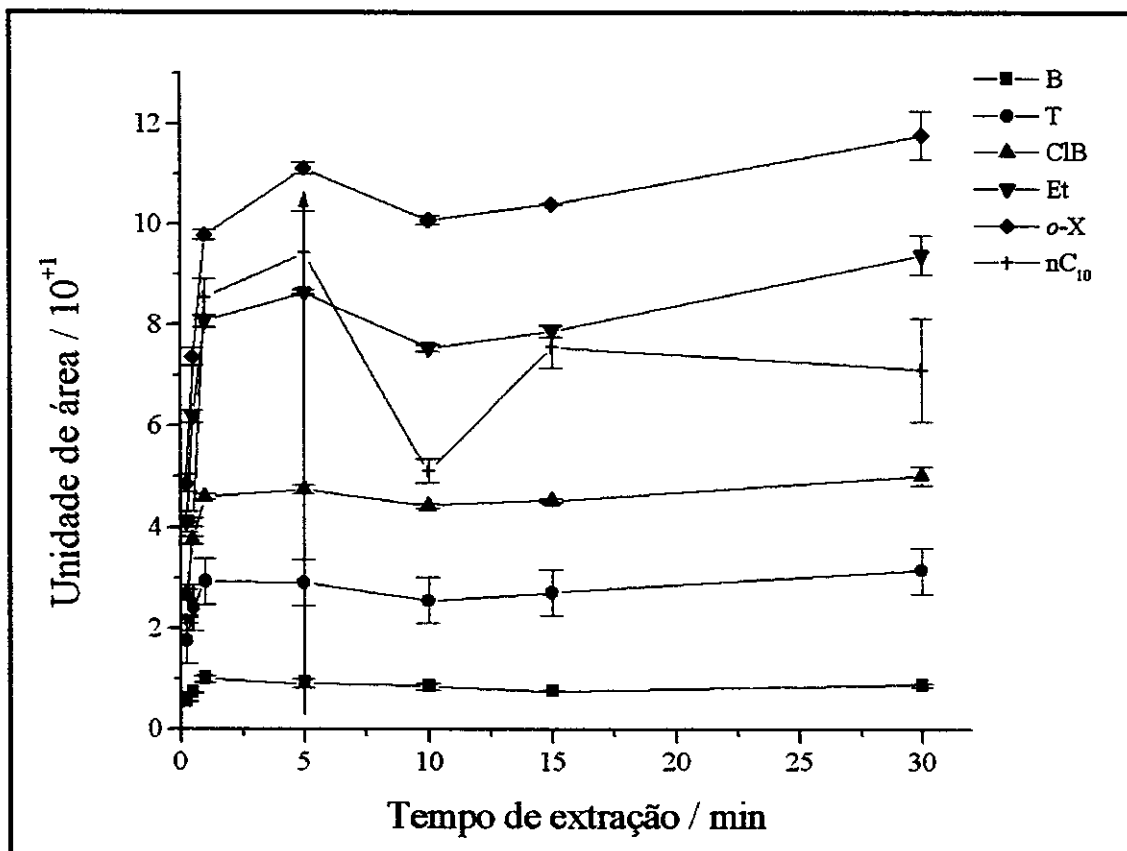
**Figura 8:** Esquema do sistema de DHS-SPME.

### 2.3.2 Caracterização do dispositivo DHS-SPME.

Preliminarmente foram obtidos perfis de extrações por HS-SPME. As áreas dos picos cromatográficos, obtidas após extração pelo método convencional de HS-SPME, foram determinadas e estabelecidos os tempos de pré-equilíbrio e de extração a serem adotados. As Figuras 9 e 10 mostram os perfis obtidos.



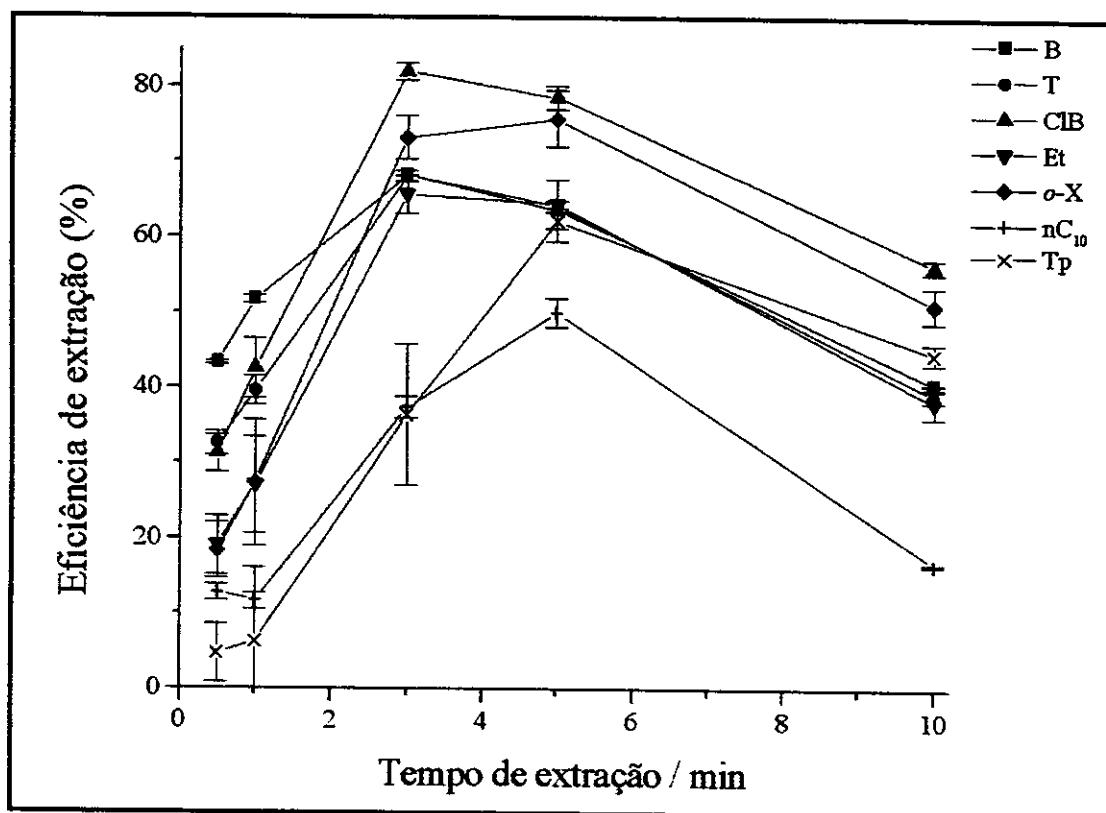
**Figura 9:** Perfil de equilíbrio amostra/HS dos analitos de teste para extração por HS-SPME com fibra 100  $\mu\text{m}$  de PDMS. -■- B: benzeno; -●- T: tolueno; -▲- ClB: clorobenzeno; -▼- Et: etilbenzeno; -◆- o-X: o-xileno; -+- nC<sub>10</sub>: decano; -x- Tp: terpineno.



**Figura 10:** Perfil de extração fibra/HS dos analitos de teste para extração por HS-SPME com fibra 100  $\mu\text{m}$  de PDMS. -■- B: benzeno; -●- T: tolueno; -▲- ClB: clorobenzeno; -▼- Et: etilbenzeno; -◆- o-X: o-xileno; -+- nC<sub>10</sub>: decano.

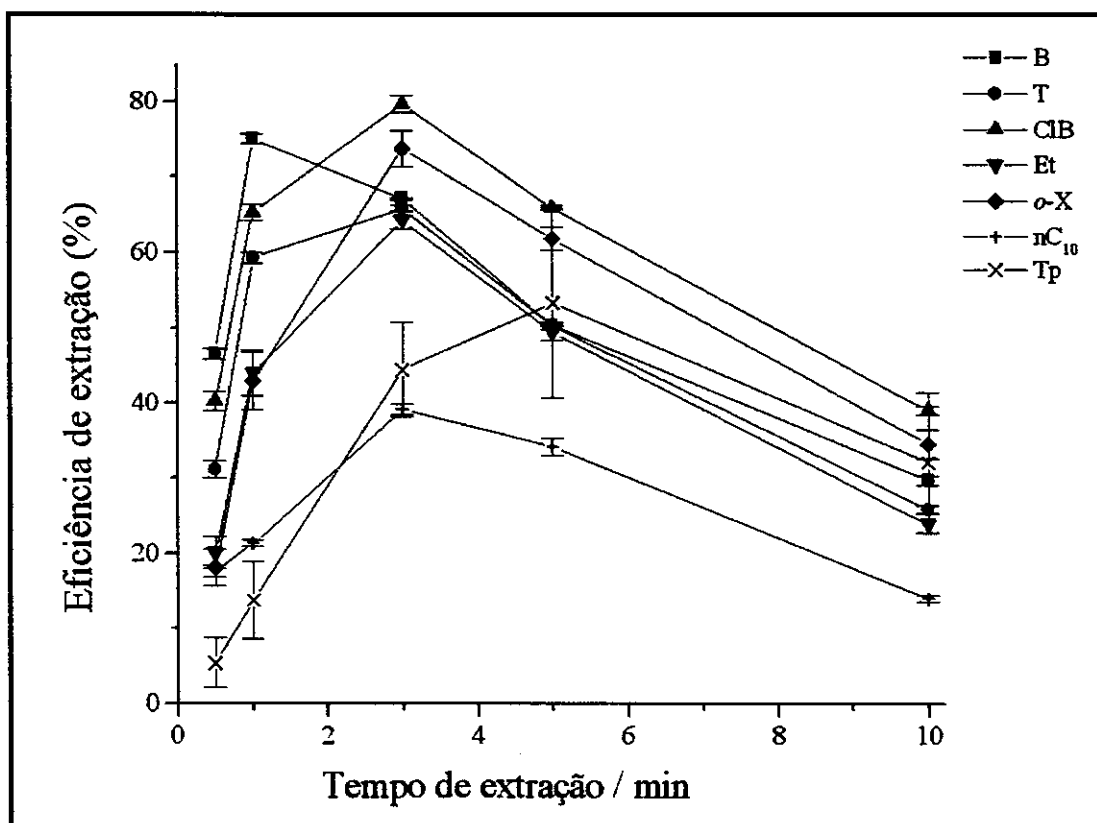
Observando-se os perfis de extração, os tempos de pré-equilíbrio e de extração foram determinados como sendo de 5 min. As estimativas dos desvios padrão relativos das áreas variaram de 0,6 % a 12,4 % em ambos os perfis de extração obtidos ( $n=3$ ).

Posteriormente, foram realizadas extrações com o dispositivo de DHS-SPME em tempos de 0,5 a 10 min com vazões de 3 a 12  $\text{mL min}^{-1}$  para a determinação da eficiência máxima de extração. Em paralelo foram realizadas extrações por HS-SPME. As Figuras de 11 a 15 mostram os perfis de extrações obtidos no sistema de DHS-SPME.



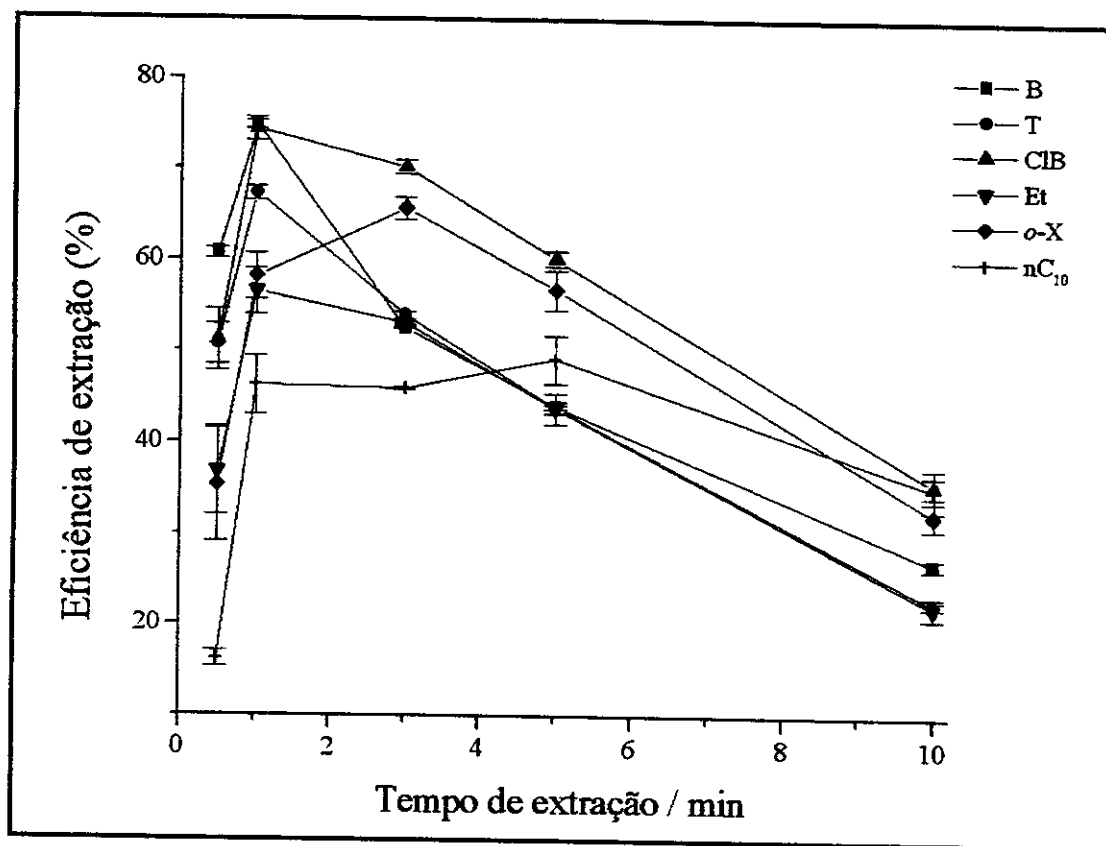
**Figura 11:** Perfil de extração obtido com dispositivo DHS-SPME com vazão de gás de *stripping* de  $3 \text{ mL min}^{-1}$ . -■- B: benzeno; -●- T: tolueno; -▲- ClB: clorobenzeno; -▼- Et: etilbenzeno; -◆- o-X: o-xileno; -+-: nC<sub>10</sub>: decano; -x- Tp: terpineno.

As estimativas dos desvios padrão relativos das áreas obtidas variaram de 1 % a 27 % (n=3).



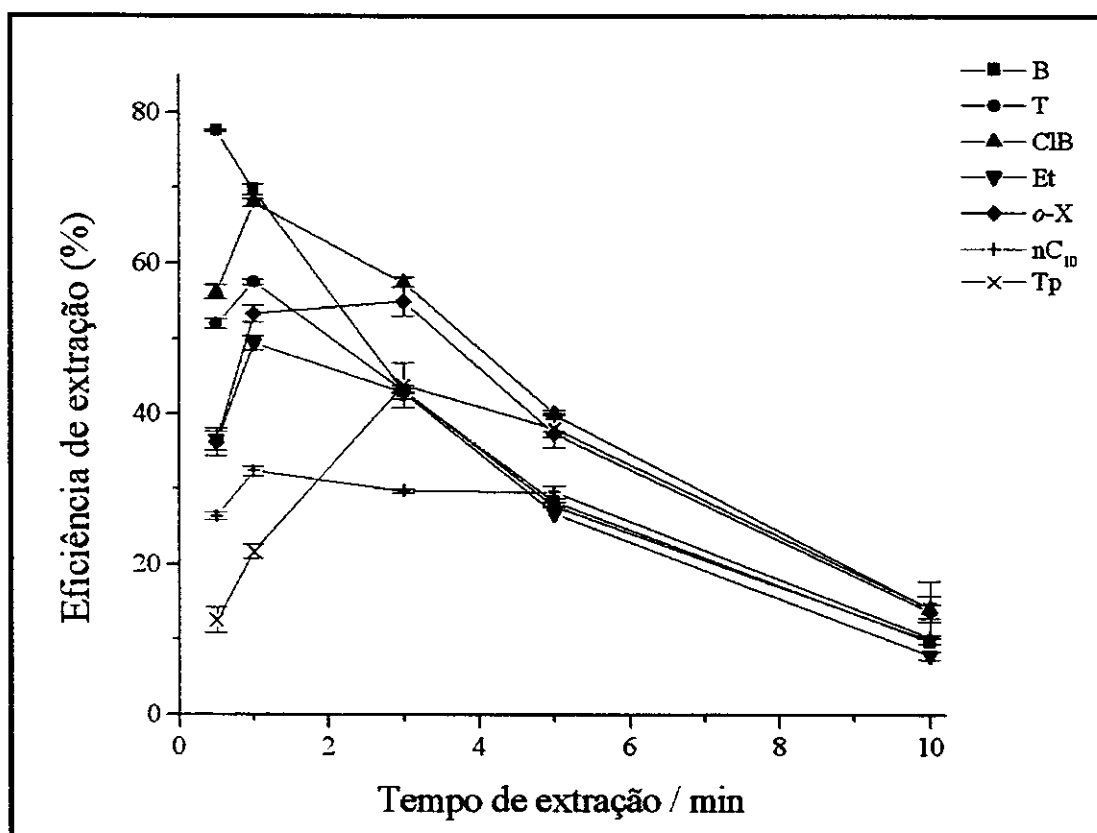
**Figura 12:** Perfil de extração obtido com dispositivo DHS-SPME com vazão de gás de *stripping* de  $4,5 \text{ mL min}^{-1}$ . -■- B: benzeno; -●- T: tolueno; -▲- ClB: clorobenzeno; -▼- Et: etilbenzeno; -◆- o-X: o-xileno; -+- nC<sub>10</sub>: decano; -x- Tp: terpineno.

As estimativas dos desvios padrão relativos das áreas obtidas variaram de 0,7 % a 17,4 % (n=3).



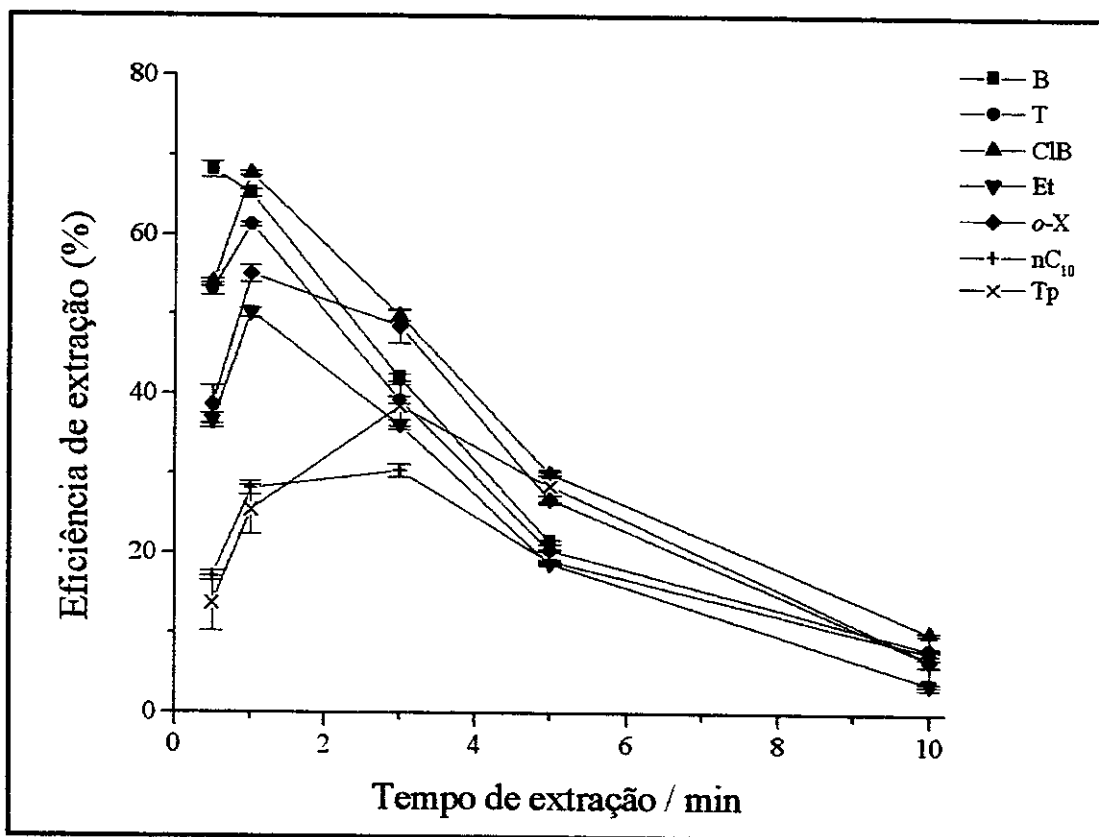
**Figura 13:** Perfil de extração obtido com dispositivo DHS-SPME com vazão de gás de *stripping* de  $6 \text{ mL min}^{-1}$ . -■- B: benzeno; -●- T: tolueno; -▲- ClB: clorobenzeno; -▼- Et: etilbenzeno; -◆- o-X: o-xileno; -+- nC<sub>10</sub>: decano.

As estimativas dos desvios padrão relativos das áreas obtidas variaram de 0 % a 15,8 % (n=3).



**Figura 14:** Perfil de extração obtido com dispositivo DHS-SPME com vazão de gás de *stripping* de 9,5 mL min<sup>-1</sup>. -■- B: benzeno; -●- T: tolueno; -▲- ClB: clorobenzeno; -▼- Et: etilbenzeno; -◆- o-X: o-xileno; -+- nC<sub>10</sub>: decano; -×-Tp: terpineno.

As estimativas dos desvios padrão relativos das áreas obtidas variaram de 0 % a 26,2 % (n=3).



**Figura 15:** Perfil de extração obtido com dispositivo DHS-SPME com vazão de gás de *stripping* de 12 mL min<sup>-1</sup>. -■- B: benzeno; -●- T: tolueno; -▲- ClB: clorobenzeno; -▼- Et: etilbenzeno; -◆- o-X: o-xileno; +- nC<sub>10</sub>: decano; -×-Tp: terpineno.

As estimativas dos desvios padrão relativos das áreas obtidas variaram de 0,8 % a 26,1 % (n=3).

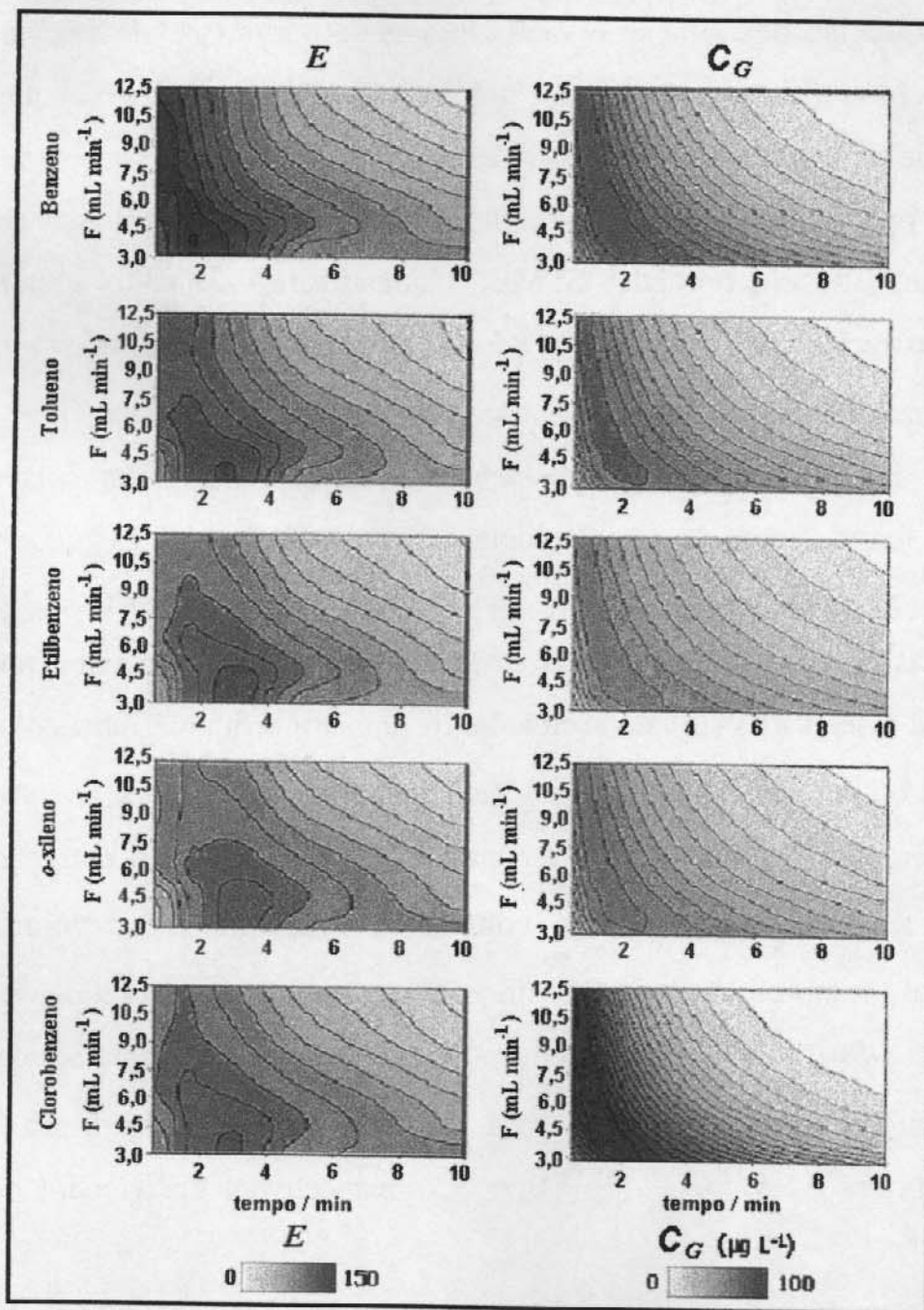
Para vazões baixas (até 6 mL min<sup>-1</sup>) observa-se que são necessários maiores tempos maiores de extração. Isto se deve à menor velocidade de transferência dos

analitos para o gás de *stripping* do dispositivo. Assim, as massas extraídas são dependentes tanto do tempo de extração quanto da vazão de gás de purga. Estes dois parâmetros, tempo de extração e vazão de gás de purga (gás de *stripping*) devem, portanto ser otimizados antes das extrações. Também se observa que, após um determinado tempo de extração, ocorre uma diminuição nas massas extraídas devido à depleção ou dessorção do analito da fibra ocasionado pelo próprio gás de *stripping*.

Na amostragem por DHS-SPME, a quantidade da analito isolada para um tempo de extração de  $t_{ext}$  em minutos e  $F$  de gás de *stripping* ( $\text{mL min}^{-1}$ ) irá depender de dois passos de transferência de massa que ocorrem simultaneamente: da amostra para o gás de *stripping* e do gás de *stripping* para a fibra. Algumas considerações podem ser feitas relativas à transferência de massa da amostra/gás de *stripping*. As bolhas de gás *stripping* partindo da interface amostra/*headspace* podem ser consideradas como saturadas com os analitos. Nesse caso, a concentração do analito existente na fase gasosa ( $C_g$ ) do recipiente da amostra será uma função de  $t_{ext}$  e da  $F$  ( $\text{mL min}^{-1}$ ) e pode ser estimada aproximadamente usando a equação 19 modificada de Vittenberg e Ioffe,<sup>63</sup> (ver item 2.2.7, pág. 30) onde  $C_L^0$  é a concentração inicial do analito na amostra aquosa,  $V_L$  é o volume da amostra,  $V_G$  é o volume nulo do *headspace* do compartimento da amostra e  $K$  é o coeficiente de partição ar/água para cada analito ( $K = C_L/C_G$ ). O coeficiente  $K$  é o inverso da constante adimensional da Lei de Henry.<sup>65</sup> Os valores de  $K$  para benzeno, tolueno, etilbenzeno, *o*-xileno e clorobenzeno são 5,5, 6,3, 7,7, 7,0 e 3,7, respectivamente (média dos valores tabelados).<sup>66</sup>

A Figura 16 mostra as superfícies de resposta para a eficiência de extração normalizada das áreas cromatográficas obtidas das vazões ( $F = \text{mL min}^{-1}$ ) aplicadas em relação ao tempo de extração  $t_{ext}$ , estimada pela equação 18; e as concentrações dos analitos testados no gás de *stripping* em função do  $t_{ext}$  e das vazões ( $F = \text{mL}$

$\text{min}^{-1}$ ), estimadas da equação 19 usando os valores de  $K$  obtidos e os parâmetros operacionais e dimensionais do sistema de DHS-SPME.



**Figura 16:** Variação na eficiência ( $E$ ) das extrações com  $t_{\text{ext}}$  e  $F$  para as áreas dos picos cromatográficos obtidos com o sistema de DHS-SPME estimada pela equação 18; e variação da concentração dos analitos no gás de *stripping*  $C_G$  com  $t_{\text{ext}}$  e  $F$ , estimado pela equação 19.

Como a concentração dos analitos no gás de *stripping* varia com o tempo, a extração pode ser assumida como acontecendo em condições de não equilíbrio. Nestas condições, a taxa de coleta de analito é controlada pela sua difusão através da camada estática limítrofe e a massa extraída depende do tempo de extração, da concentração, e do coeficiente de difusão da espécie no ar e da espessura da camada limite (que dentre outras, é função da velocidade linear do fluxo de ar ao redor da fibra, da temperatura da viscosidade de ar).<sup>49</sup> Bartelt e Zilkowski<sup>47</sup> mostraram um modelo semi-empírico correlacionando a massa extraída em um fluxo de ar paralelo à fibra em condições de não-equilíbrio. Dado o limitado tempo de contato fibra/analito, eles mostraram que das espécies somente uma fração tem tempo suficiente para difundir através do gás para a superfície da fibra, o que exige a introdução de um fator de correção empírico no modelo para compensar este fenômeno. O incremento na velocidade do fluxo de gás diminui o tempo de residência do analito na cela de extração, e tenderá também a diminuir a eficiência de extração.

Aplicação direta da equação de Bartelt e Zilkowski para o sistema de DHS-SPME desenvolvido não é possível, já que a concentração do analito no gás de *stripping* varia com o tempo de extração e esse modelo prevê concentração constante. Devido à complexidade matemática inerente, a dedução de um modelo formal completo está fora da extensão deste trabalho. Entretanto, examinando a Figura 16 algumas considerações qualitativas podem ser obtidas. Para baixos valores de  $F$ , os perfis de extração são similares aos perfis de concentração esperada do analito no gás de *stripping*. Com aumento de  $F$ , a eficiência de extração diminui mais rapidamente que a concentração prevista do analito no gás de *stripping*. Para menores vazões de gás, o tempo de residência do analito dentro da cela de extração é suficientemente para permitir sua difusão para superfície de fibra, na qual eles podem ser sorvidos rapidamente. Neste caso, a massa extraída depende diretamente

da concentração do analito no gás de *stripping* no momento em que a fibra é removida. Para vazões altas, o curto tempo de residência aparentemente limita a eficiência de extração: por exemplo, considerando o diâmetro da fibra usada (300  $\mu\text{m}$ ) e o diâmetro da cela de extração (1,2 mm), para  $F = 12,7 \text{ mL min}^{-1}$ , o tempo de residência será de 50 ms; neste caso parte dos analitos pode sair do sistema antes de ter tempo para difundir através da camada limite e alcançar a superfície da fibra.

### 2.3.3 Curvas analíticas obtidas com o dispositivo de DHS-SPME.

A partir dos perfis de extração levantados foram construídas curvas analíticas com faixas de concentração de 50 a 500  $\mu\text{g L}^{-1}$ , tempos de extração de 1 e 5 min em vazões de 3, 6 e 12  $\text{mL min}^{-1}$ . A Tabela 3 apresenta os parâmetros das curvas analíticas obtidas.

**Tabela 3:** Coeficientes da reta obtidos para as curvas analíticas:  $t_{\text{ext}}$  – tempo de extração (min);  $F$  – vazão do gás de *stripping* (mL min<sup>-1</sup>);  $a$  – inclinação;  $b$  – intercepto;  $r$  – coeficiente de correlação; LD – limite de detecção ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) ( $n = 3$ ).

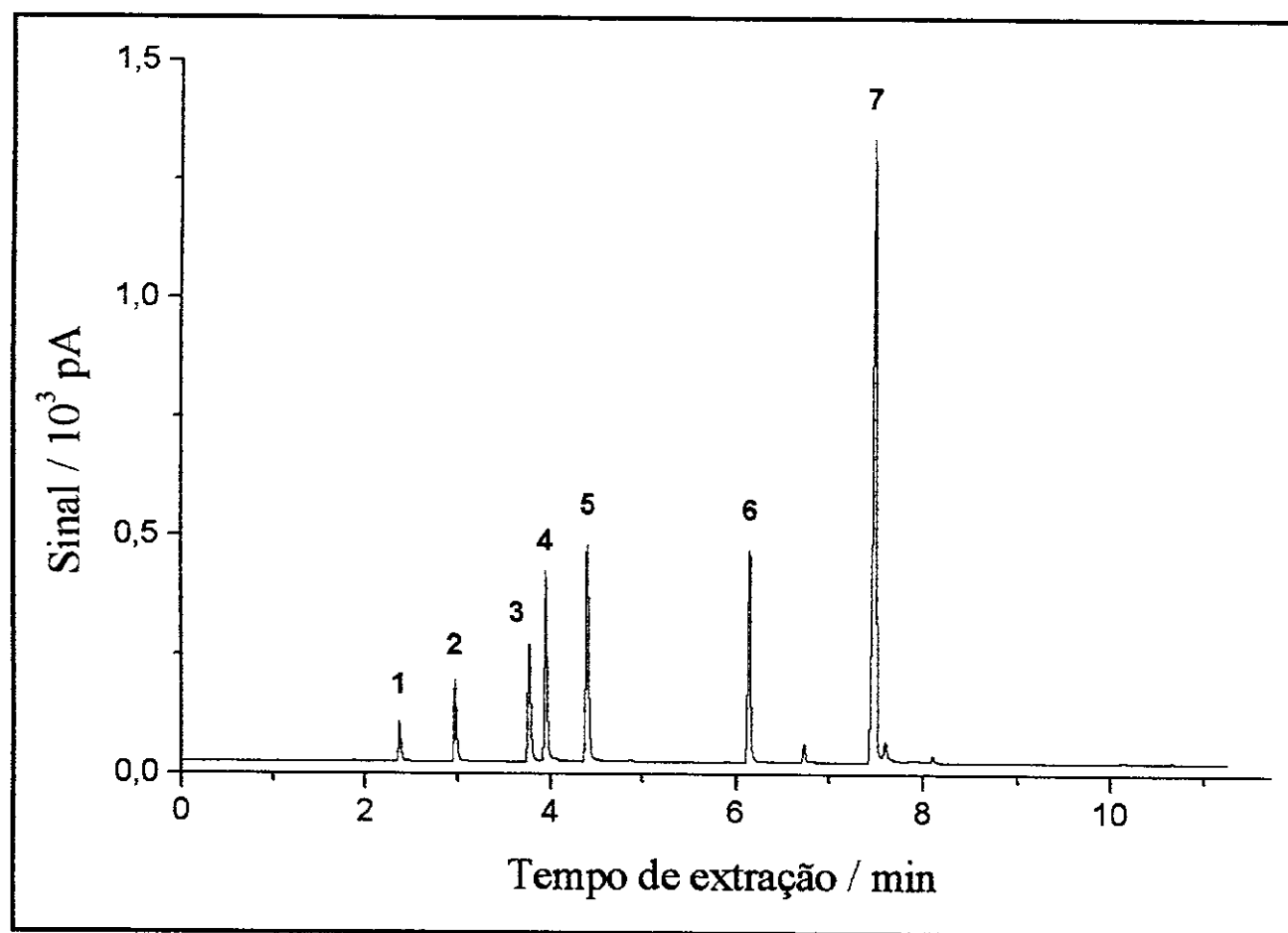
| $t_{\text{ext}}$ | $F$ |    | B            | T           | ClB         | Et          | <i>o</i> -X | nC <sub>10</sub> | Tp          |
|------------------|-----|----|--------------|-------------|-------------|-------------|-------------|------------------|-------------|
| 1                | 3   | a  | 0,018+0,001  | 0,058+0,002 | 0,068+0,002 | 0,124+0,006 | 0,126+0,007 | 0,126+0,011      | 0,203+0,020 |
|                  |     | b  | 1,1+0,3      | 0,9+0,5     | 2,9+0,6     | 2,0+1,7     | 1,2+2,0     | -3,2+2,7         | 1,8+6,2     |
|                  |     | r  | 0,995        | 0,999       | 0,998       | 0,996       | 0,994       | 0,989            | 0,981       |
|                  |     | LD | 47           | 25          | 26          | 42          | 48          | 64               | 91          |
|                  | 6   | a  | 0,024+0,001  | 0,097+0,004 | 0,142+0,005 | 0,262+0,011 | 0,274+0,011 | 0,321+0,027      | 0,728+0,037 |
|                  |     | b  | 0,2+0,2      | 0,7+1,1     | -0,2+1,7    | -0,2+3,4    | -1,0+3,5    | 0,9+8,3          | -4,4+11,2   |
|                  |     | r  | 0,998        | 0,997       | 0,997       | 0,996       | 0,997       | 0,986            | 0,995       |
|                  |     | LD | 27           | 33          | 35          | 39          | 38          | 78               | 46          |
|                  | 12  | a  | 0,023+0,001  | 0,087+0,001 | 0,183+0,012 | 0,248+0,005 | 0,274+0,006 | 0,361+0,034      | 0,839+0,08  |
|                  |     | b  | 0,4+0,2      | 1,1+0,3     | 11,9+3,14   | 1,6+1,4     | 1,5+1,9     | 2,8+10,3         | 8,8+24,2    |
|                  |     | r  | 0,998        | 1,000       | 0,992       | 0,999       | 0,999       | 0,983            | 0,982       |
|                  |     | LD | 30           | 9           | 52          | 17          | 21          | 85               | 86          |
| 5                | 3   | a  | 0,023+0,001  | 0,092+0,005 | 0,153+0,005 | 0,290+0,013 | 0,349+0,013 | 0,234+0,023      | 1,507+0,089 |
|                  |     | b  | 0,4+0,4      | 1,7+1,4     | 17,1+0,94   | 1,4+3,4     | 1,1+4,0     | 25,6+4,36        | -0,2+26,3   |
|                  |     | r  | 0,993        | 0,995       | 0,999       | 0,996       | 0,997       | 0,990            | 0,993       |
|                  |     | LD | 56           | 45          | 18          | 41          | 34          | 56               | 54          |
|                  | 6   | a  | 0,014+0,0004 | 0,061+0,002 | 0,112+0,002 | 0,197+0,006 | 0,259+0,007 | 0,328+0,014      | 1,518+0,063 |
|                  |     | b  | 0,2+0,1      | 0,5+0,8     | -0,1+0,7    | -0,6+1,8    | -0,9+2,1    | 6,1+2,7          | -12,4+19,0  |
|                  |     | r  | 0,998        | 0,997       | 0,999       | 0,998       | 0,999       | 0,998            | 0,997       |
|                  |     | LD | 29           | 37          | 19          | 27          | 25          | 25               | 38          |
|                  | 12  | a  | 0,006+0,0003 | 0,025+0,002 | 0,056+0,003 | 0,080+0,006 | 0,126+0,008 | 0,208+0,036      | 0,768+0,058 |
|                  |     | b  | 0,1+0,09     | 1,0+0,6     | 0,2+1,0     | 0,5+1,8     | 0,4+2,5     | -6,3+10,8        | 1,6+17,5    |
|                  |     | r  | 0,995        | 0,989       | 0,993       | 0,989       | 0,991       | 0,946            | 0,989       |
|                  |     | LD | 45           | 68          | 55          | 67          | 60          | 156              | 68          |
| HS-SPME          |     | a  | 0,03+0,001   | 0,15+0,002  | 0,17+0,02   | 0,46+0,004  | 0,47+0,003  | 0,94+0,07        | 2,89+0,05   |
|                  |     | b  | 0,4+0,2      | 0,1+0,7     | 14,1+5,8    | 3,7+1,2     | 2,9+0,9     | 12,4+21,0        | -7,3+14,2   |
|                  |     | r  | 0,998        | 0,999       | 0,949       | 1,000       | 1,000       | 0,979            | 0,999       |
|                  |     | LD | 20           | 15          | 106         | 8           | 6           | 67               | 15          |

Nota: B = benzeno; T = tolueno; ClB = clorobenzeno; Et = etilbenzeno; *o*-X = *o*-xileno; nC<sub>10</sub> = decano; Tp =  $\gamma$ -terpineno.

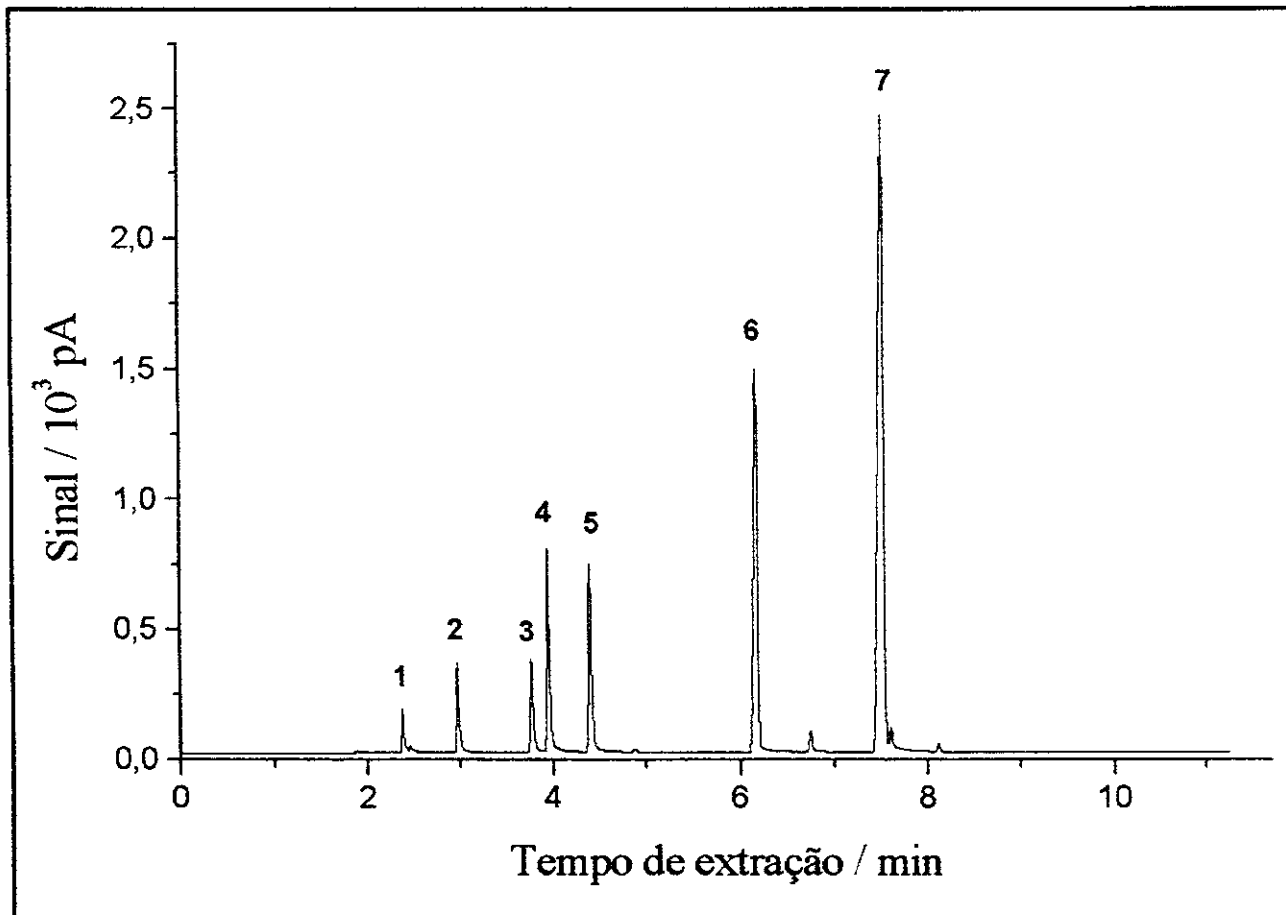
Para estas amostras aquosas simples a sensibilidade, expressa através das inclinações das curvas de DHS-SPME, é menor que a obtida por HS-SPME

convencional. Já os desvios obtidos se mostraram equivalentes para ambos os métodos. O mesmo não ocorreu para os desvios dos interceptos que se mostraram altos para alguns dos analitos de ambos os métodos. Contudo, os coeficientes de correlação são equivalentes quando comparados com HS-SPME e os limites de detecção são de mesma ordem de grandeza ou melhores.

As Figuras 17 e 18 apresentam cromatogramas da solução aquosa de teste obtido com extrações pelo sistema de DHS-SPME e por HS-SPME, respectivamente.



**Figura 17:** Cromatograma obtido por DHS-SPME com  $t_{ext}$  de 1 min e vazão de 6 mL min<sup>-1</sup> de gás de *stripping*. Fibra de 100  $\mu$ m de PDMS. Solução aquosa de 500  $\mu$ g L<sup>-1</sup> de: 1 - benzeno; 2 - tolueno; 3 - clorobenzeno; 4 - etilbenzeno; 5 - *o*-xileno; 6 - decano; 7 -  $\gamma$ -terpineno.



**Figura 18:** Cromatograma obtido por HS-SPME com tempo de equilíbrio amostra/HS e tempo de extração fibra/HS de 5 min respectivamente. Fibra de 100  $\mu$ m de PDMS. Solução aquosa de 500  $\mu$ g L<sup>-1</sup> de: 1 - benzeno; 2 - tolueno; 3 - clorobenzeno; 4 - etilbenzeno; 5 - *o*-xileno; 6 - decano; 7 -  $\gamma$ -terpineno.

Dentre os cromatogramas obtidos, verifica-se uma menor intensidade de sinal para a extração em DHS em relação à extração realizada por HS. Este comportamento é esperado em relação às discussões apresentadas anteriormente.

## **2.4 Aplicação do dispositivo de DHS-SPME as amostras não sintéticas.**

### **2.4.1 Manga.**

A primeira aplicação do sistema foi realizada na extração de compostos voláteis em polpa de manga fresca e polpa industrializada concentrada. Foram feitas paralelamente extrações usando HS-SPME convencional. Os tempos de pré-equilíbrio amostra/HS e de extração, para o método convencional foram determinados de 5 min, respectivamente. Os compostos monitorados foram identificados pela injeção de padrões e os respectivos tempos de retenção comparados a cada um dos analitos. A Tabela 4 mostra a variação das áreas dos picos dos analitos monitorados com os parâmetros operacionais de DHS-SPME ( $t_{ext}$  (min) e  $F$  (mL min<sup>-1</sup>)).

**Tabela 4:** Área (em unidade) dos constituintes voláteis da polpa de manga fresca extraída por DHS-SPME. ( $t_{ex}$  = tempo de extração) ( $n = 1$ ).

| $F = 3 \text{ mL min}^{-1}$ de gás de <i>stripping</i>  |       |       |       |               |        |
|---------------------------------------------------------|-------|-------|-------|---------------|--------|
| $t_{ex}$ (min)                                          | 1     | 3     | 5     | 10            | 15     |
| $\alpha$ -pineno                                        | 53,1  | 140,5 | 162,8 | <b>167,1</b>  | 123,3  |
| $\beta$ -pineno                                         | 9,7   | 25,3  | 32,9  | <b>35,1</b>   | 25,4   |
| mirceno                                                 | 10    | 29,6  | 38,8  | <b>44</b>     | 32,4   |
| 3-careno                                                | 302,3 | 935,4 | 1225  | <b>1370,1</b> | 1022,1 |
| limoneno                                                | 15,8  | 52,4  | 73,1  | <b>81,8</b>   | 64,7   |
| $\gamma$ -terpinoleno                                   | 14,6  | 56,3  | 93    | <b>139,1</b>  | 115,9  |
| $F = 6 \text{ mL min}^{-1}$ de gás de <i>stripping</i>  |       |       |       |               |        |
| $\alpha$ -pineno                                        | 103,4 | 117,7 | 130,1 | 150           | 154,3  |
| $\beta$ -pineno                                         | 18,4  | 24    | 27    | 33,8          | 32,1   |
| mirceno                                                 | 13,6  | 17,4  | 19,8  | 23,8          | 23,6   |
| 3-careno                                                | 339,6 | 488,6 | 527,9 | 657,5         | 652,1  |
| limoneno                                                | 30,8  | 35,2  | 38,9  | 47,9          | 47     |
| $\gamma$ -terpinoleno                                   | 16,7  | 37,9  | 45,2  | 64,7          | 64,8   |
| $F = 12 \text{ mL min}^{-1}$ de gás de <i>stripping</i> |       |       |       |               |        |
| $\alpha$ -pineno                                        | 100,1 | 100,2 | 184,2 | 107,7         | 78,3   |
| $\beta$ -pineno                                         | 17,7  | 22,8  | 32,3  | 22,5          | 16,3   |
| mirceno                                                 | 14,6  | 16    | 25,7  | 16,2          | 11,9   |
| 3-careno                                                | 380,8 | 416,5 | 750   | 447,4         | 326    |
| limoneno                                                | 24,6  | 29,5  | 50,3  | 30,4          | 22,5   |
| $\gamma$ -terpinoleno                                   | 25,2  | 38,1  | 68,8  | 46,5          | 33,8   |

De um modo geral a vazão  $F$  aplicada e  $t_{\text{ext}}$  onde foram obtidos os melhores resultados para a polpa de manga fresca foi  $3 \text{ mL min}^{-1}$  e  $10 \text{ min}$ , respectivamente. A Tabela 5 compara as áreas dos picos identificados, obtidas por DHS-SPME e HS-SPME, para as amostras analisadas.

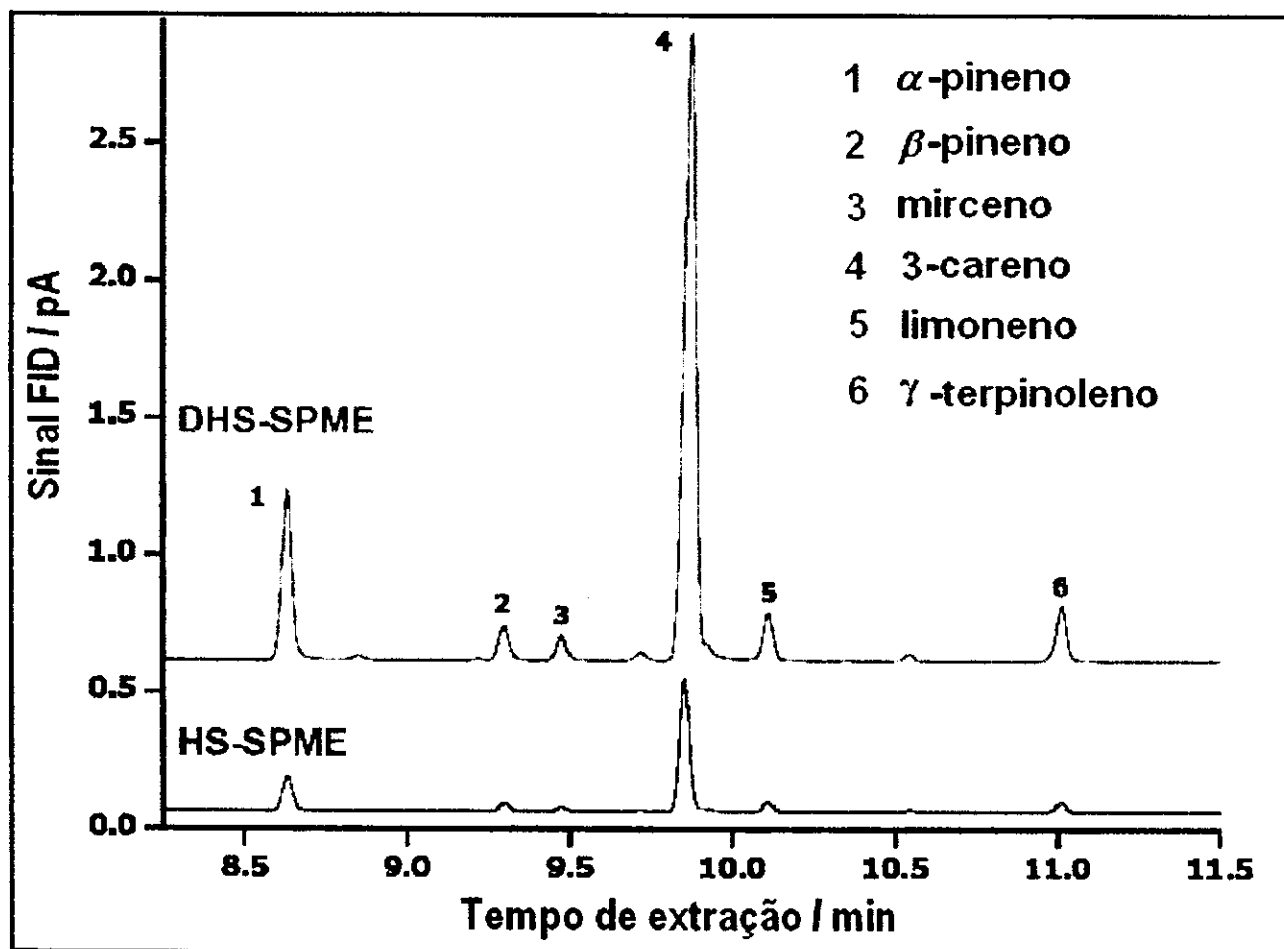
**Tabela 5:** Áreas dos picos dos constituintes de polpa de manga frescas e polpa industrializada.

| Analitos              | SPME polpa de manga fresca |     |        | SPME polpa industrializada |      |        |
|-----------------------|----------------------------|-----|--------|----------------------------|------|--------|
|                       | DHS                        | HS  | DHS/HS | DHS                        | HS   | DHS/HS |
| $\alpha$ -pineno      | 1403                       | 255 | 5,5    | nd                         | nd   | -      |
| $\beta$ -pineno       | 291                        | 52  | 5,5    | nd                         | nd   | -      |
| mirceno               | 194                        | 32  | 6,1    | 1898                       | 1720 | 1,1    |
| 3-careno              | 5976                       | 913 | 6,5    | nd                         | nd   | -      |
| limoneno              | 418                        | 70  | 5,9    | 40                         | 33   | 1,2    |
| $\gamma$ -terpinoleno | 470                        | 68  | 6,9    | 9                          | 9    | 1,0    |

**Nota:** DHS/HS – razão entre as áreas; nd – não detectável.

Os resultados mostram que para uma amostra complexa e de grande viscosidade como a polpa de manga fresca, DHS-SPME resultou em eficiências de extração até 6,9 vezes maior que HS-SPME convencional. O mesmo não ocorreu para a polpa industrializada. Isto possivelmente se deve à menor viscosidade e complexidade da amostra de polpa industrializada.

A Figura 19 compara cromatogramas obtidos para a polpa fresca usando HS-SPME e DHS-SPME com a fibra de 100  $\mu\text{m}$  de PDMS.



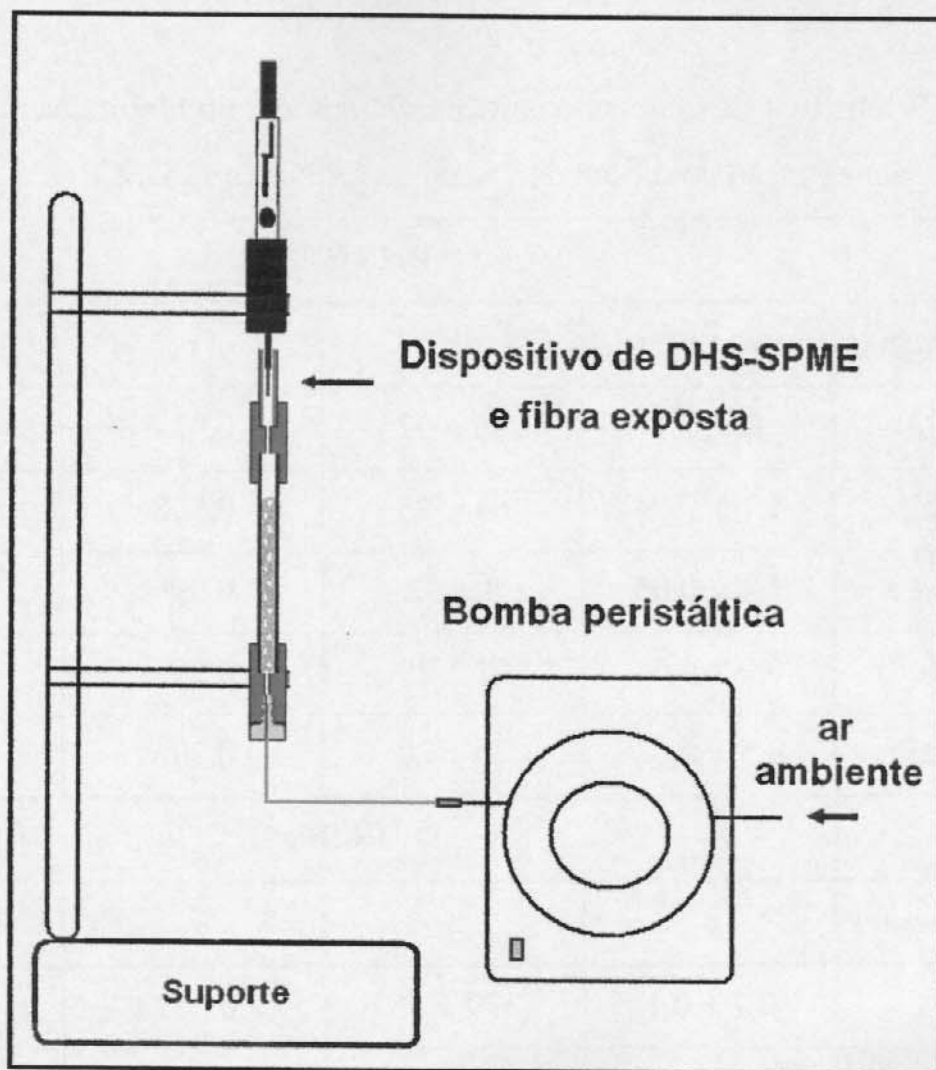
**Figura 19:** Cromatogramas obtidos da extração de polpa de manga fresca por DHS-SPME e por HS-SPME.

Verifica-se a maior intensidade de sinal para os compostos de polpa de manga fresca quando extraídos por DHS-SPME.

### 2.4.2 *Líquor de cacau.*

Para a extração de alquilpirazinas em líquido de cacau foi usada uma modificação do sistema de DHS-SPME. O rotâmetro e a válvula interruptora de gás foram substituídos por uma bomba peristáltica para a propulsão de ar, que foi usado como gás de *stripping*. A Figura 20 mostra o esquema do sistema com a substituição.

A massa de amostra de *líquor* de cacau foi de  $(4,2 \pm 0,2)$  g, que preenche totalmente a cela da amostra. Com base na experiência já adquirida nos ensaios anteriores, foi aplicada diretamente uma vazão de gás de *stripping* de  $12 \text{ mL min}^{-1}$  para a amostragem por DHS e 20 min de extração para ambos os métodos de DHS e HS-SPME, sem ensaios de otimização aprofundados.



**Figura 20:** Sistema de DHS-SPME com uso de bomba peristáltica para propulsão de ar ambiente como gás de *stripping*.

A Tabela 6 mostra os valores dos parâmetros das curvas analíticas obtidas do *líquor* de cacau dopado com 119 ng g<sup>-1</sup> a 1190 ng g<sup>-1</sup> de cada alquilpirazina para DHS-SPME e HS-SPME.

**Tabela 6:** Parâmetros das curvas analíticas obtidas de alquilpirazinas dopadas em *líquor* de cacau; extração com fibra de 75 µm de Carboxen / PDMS.

| <b>DHS-SPME</b>        |                |               |          |           |
|------------------------|----------------|---------------|----------|-----------|
| <b>Alquilpirazinas</b> | <b>a</b>       | <b>b</b>      | <b>r</b> | <b>LD</b> |
| <b>2 MePz</b>          | $2 \pm 0,3$    | $266 \pm 225$ | 0,937    | 361       |
| <b>2,5 DMePz</b>       | $1,1 \pm 0,04$ | $63 \pm 25$   | 0,998    | 66        |
| <b>2,3 DMePz</b>       | $1,1 \pm 0,05$ | $3 \pm 32$    | 0,996    | 88        |
| <b>2,3,5 TMePz</b>     | $0,9 \pm 0,04$ | $21 \pm 29$   | 0,995    | 97        |
| <b>TetraMePz</b>       | $0,5 \pm 0,02$ | $20 \pm 20$   | 0,996    | 115       |
| <b>HS-SPME</b>         |                |               |          |           |
| <b>Alquilpirazinas</b> | <b>a</b>       | <b>b</b>      | <b>r</b> | <b>Ld</b> |
| <b>2 MePz</b>          | $0,7 \pm 0,1$  | $379 \pm 55$  | 0,972    | 237       |
| <b>2,5 DMePz</b>       | $0,4 \pm 0,02$ | $30 \pm 15$   | 0,994    | 109       |
| <b>2,3 DMePz</b>       | $0,4 \pm 0,02$ | $1 \pm 13$    | 0,995    | 96        |
| <b>2,3,5 TMePz</b>     | $0,3 \pm 0,02$ | $14 \pm 11$   | 0,994    | 107       |
| <b>TetraMePz</b>       | $0,2 \pm 0,01$ | $1 \pm 7$     | 0,993    | 118       |

**Nota:** a = sensibilidade; b = intercepto; r = correlação linear; LD = limite de detecção ( $\text{ng g}^{-1}$ ). 2 MePz – 2 metilpirazina; 2,5 DMePz – 2,5 dimetilpirazina; 2,3 DMePz – 2,3 dimetilpirazina; 2,3,5 TMePz – 2,3,5 trimetilpirazina; TetraMePz – tetrametilpirazina (n = 3).

As curvas analíticas obtidas por DHS-SPME proporcionam melhores sensibilidades, coeficiente de correlação e limites de detecção para as alquilpirazinas, em comparação a HS-SPME (exceto para 2 MePz).

A Tabela 7 apresenta as recuperações, expressas em percentagens, para as quantificações realizadas seis meses após a construção da curva analítica.

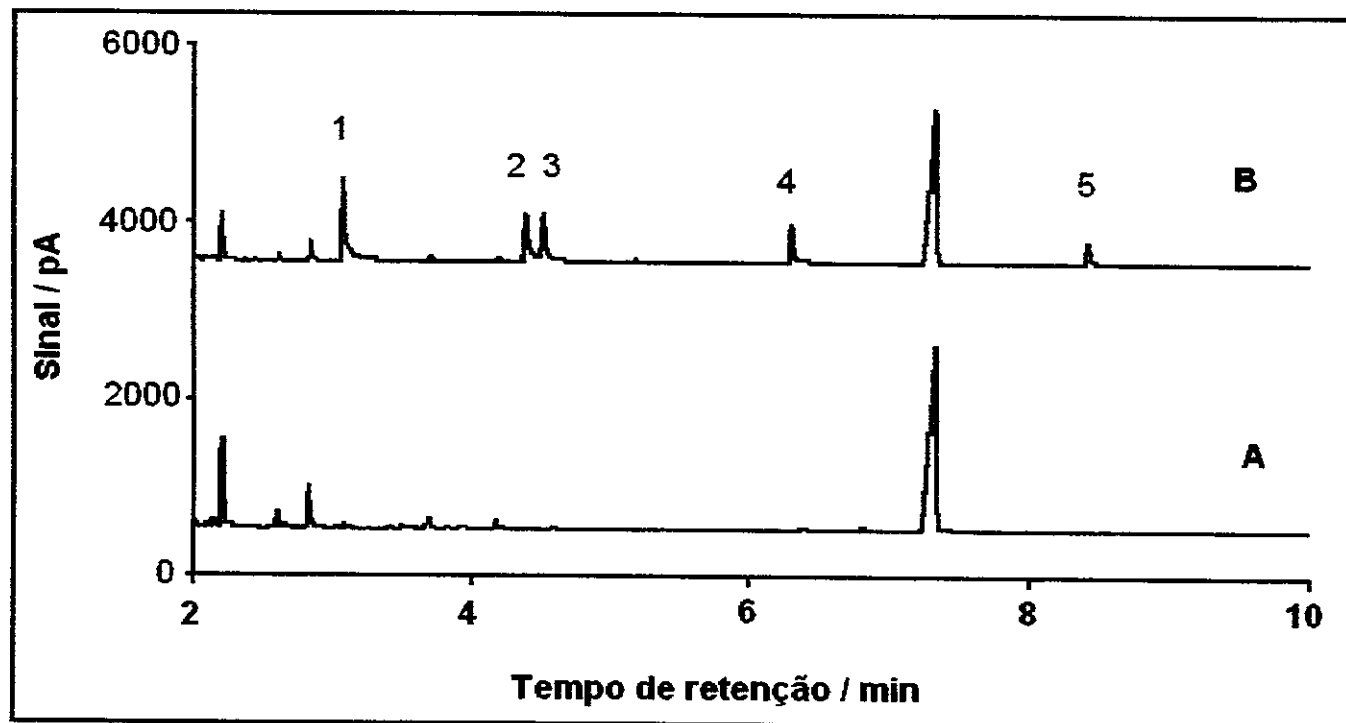
**Tabela 7:** Recuperação (em percentagem) para 238 ng g<sup>-1</sup> e 476 ng g<sup>-1</sup> das alquilpirazinas dopadas em *líquor* de cacau: A) dopagem e recuperação após obtenção da curva analítica; B) dopagem e recuperação após período de seis meses nas mesmas condições de extração para comparação.

| Alquilpirazinas | A                      |           |             |           | B            |           |             |          |
|-----------------|------------------------|-----------|-------------|-----------|--------------|-----------|-------------|----------|
|                 | DHS-SPME (%)           |           | HS-SPME (%) |           | DHS-SPME (%) |           | HS-SPME (%) |          |
|                 | 238                    | 476       | 238         | 476       | 238          | 476       | 238         | 476      |
| 2 MePz          | 143 ± 0,3 <sup>a</sup> | 121 ± 1,4 | 142 ± 0,8   | 124 ± 2,7 | 97 ± 4,5     | 99 ± 4,9  | 12 ± 0,02   | 25 ± 7,7 |
| 2,5 DMePz       | 93 ± 4,2               | 107 ± 0,5 | 163 ± 2,4   | 109 ± 4,0 | 67 ± 6,8     | 92 ± 1,0  | 69 ± 4,6    | 63 ± 22  |
| 2,3 DMePz       | 102 ± 2,9              | 124 ± 0,9 | 177 ± 6,2   | 110 ± 1,8 | 103 ± 8,5    | 111 ± 3,7 | 94 ± 2,2    | 79 ± 39  |
| 2,3,5 TMePz     | 107 ± 0,7              | 108 ± 1,3 | 166 ± 3,2   | 110 ± 7,7 | 81 ± 6,1     | 104 ± 2,9 | 57 ± 41     | 67 ± 34  |
| TetraMePz       | 117 ± 1,9              | 99 ± 1,2  | 153 ± 11    | 107 ± 4,9 | 60 ± 0,3     | 98 ± 4,0  | 61 ± 24     | 55 ± 45  |

**Nota:** 2 MePz – 2 metilpirazina; 2,5 DMePz – 2,5 dimetilpirazina; 2,3 DMePz – 2,3 – dimetilpirazina; 2,3,5 TMePz – 2,3,5 trimetilpirazina, TetraMePz – tetrametilpirazina; a = estimativa dos desvios padrão relativos em percentagem (n = 3).

Observando-se os percentuais de recuperação das alquilpirazinas, verifica-se que melhores resultados são obtidos quando aplicado o dispositivo de DHS-SPME, mesmo após um período de seis meses depois de obtidas as curvas analíticas.

A Figura 21 apresenta os cromatogramas obtidos da extração do *líquor* de cacau sem a dopagem com as alquilpirazinas e do *líquor* de cacau dopado com 1190 ng g<sup>-1</sup> de cada alquilpirazina.

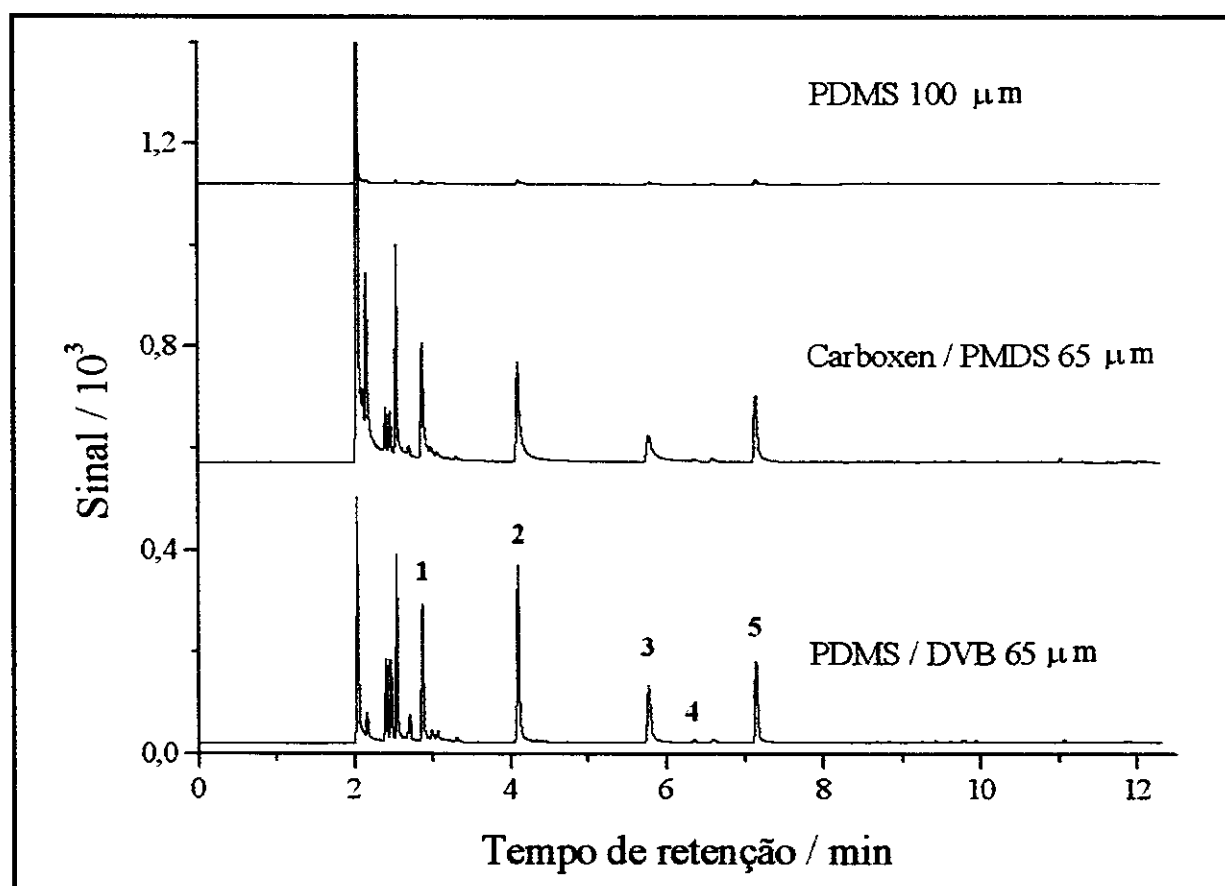


**Figura 21:** Cromatogramas obtidos do líquido de cacau pelo dispositivo da extração de: A) DHS-SPME líquido de cacau puro; B) DHS-SPME dopados com  $1190 \text{ ng g}^{-1}$  das alquilpirazinas; (1) 2-metil-; (2) 2,5-dimetil-; (3) 2,3-dimetil-; (4) 2,3,5-trimetil-; (5) tetrametilpirazina.

Entre as alquilpirazinas extraídas verifica-se que não há uma boa resolução na separação para a 2,5-dimetil e 2,3 dimetilpirazina. Isto se deve a estas pirazinas serem isômeros entre si.

### 2.4.3 Compostos orgânicos voláteis em solo.

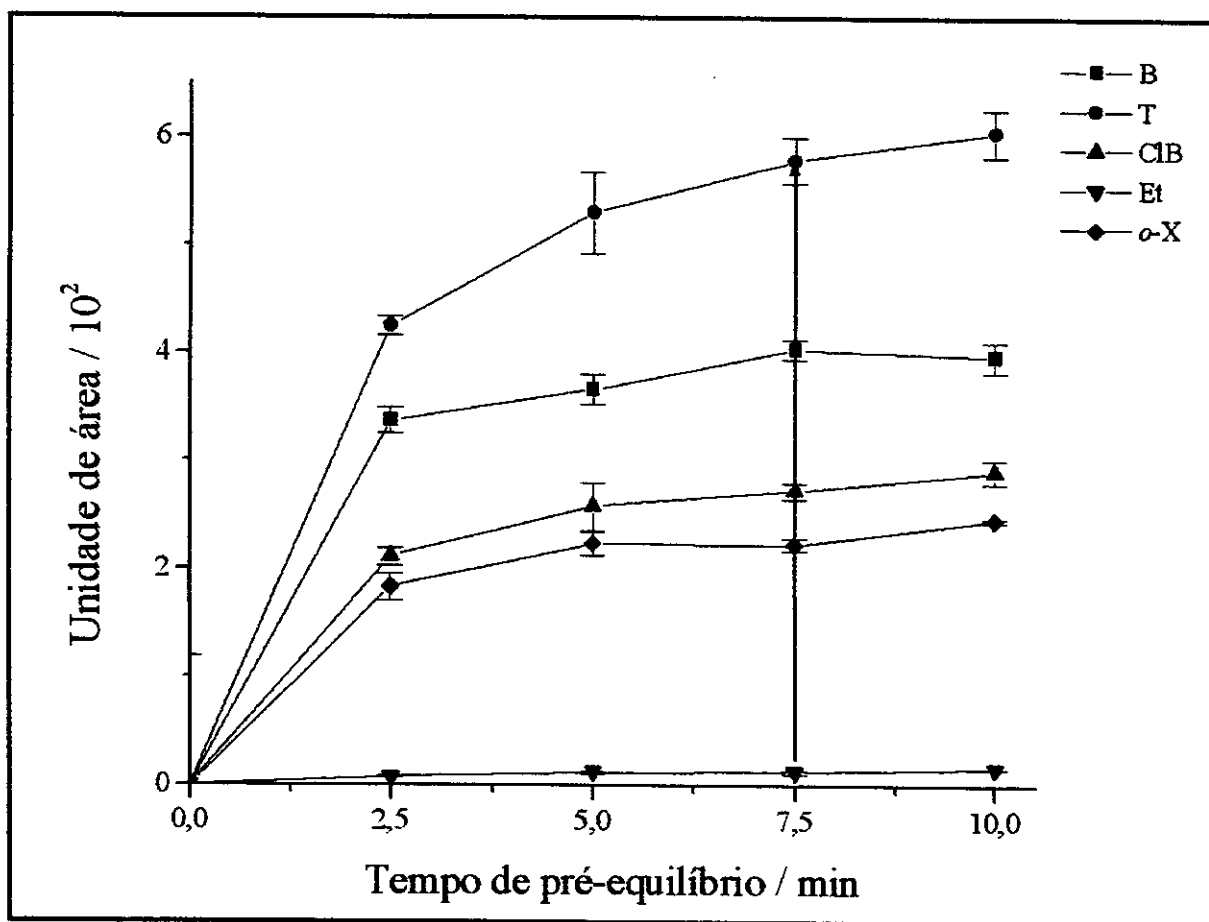
Na extração dos compostos orgânicos voláteis de solo foram avaliadas as fibras de 100  $\mu\text{m}$  de PDMS, 75  $\mu\text{m}$  de Carboxen / PDMS e a de 65  $\mu\text{m}$  PDMS / DVB. Para a relação da fibra para o desenvolvimento do trabalho que foi feita por HS-SPME convencional, 1,0 g de solo foi dopado com 100 ng g<sup>-1</sup> de cada analito. A Figura 22 apresenta cromatogramas obtidos após a extração de compostos orgânicos voláteis em solo com as três fibras de SPME.



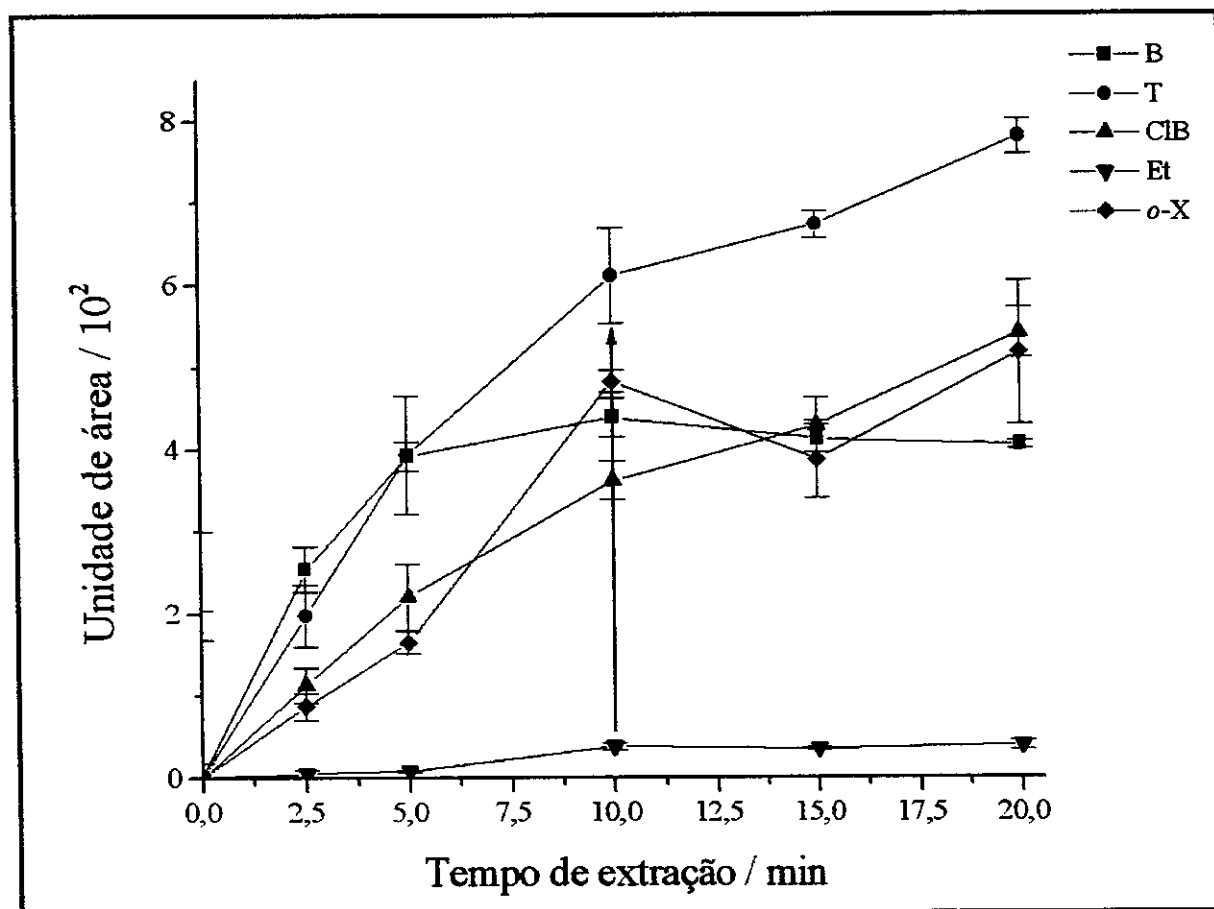
**Figura 22:** Perfis cromatográficos obtidos por HS-SPME da extração de solo dopado com 100 ng g<sup>-1</sup> de: 1 - Benzeno; 2 - Tolueno; 3 - Clorobenzeno; 4 – Etilbenzeno e 5 – *o*-xileno.

Dentre as três fibras avaliadas, a PDMS / DVB foi a que apresentou melhores resultados, sendo escolhida para o desenvolvimento do trabalho.

Os perfis de tempo de pré-equilíbrio e tempo de extração obtida por HS-SPME com a fibra de PDMS / DVB são mostrados nas Figuras 23 e 24.



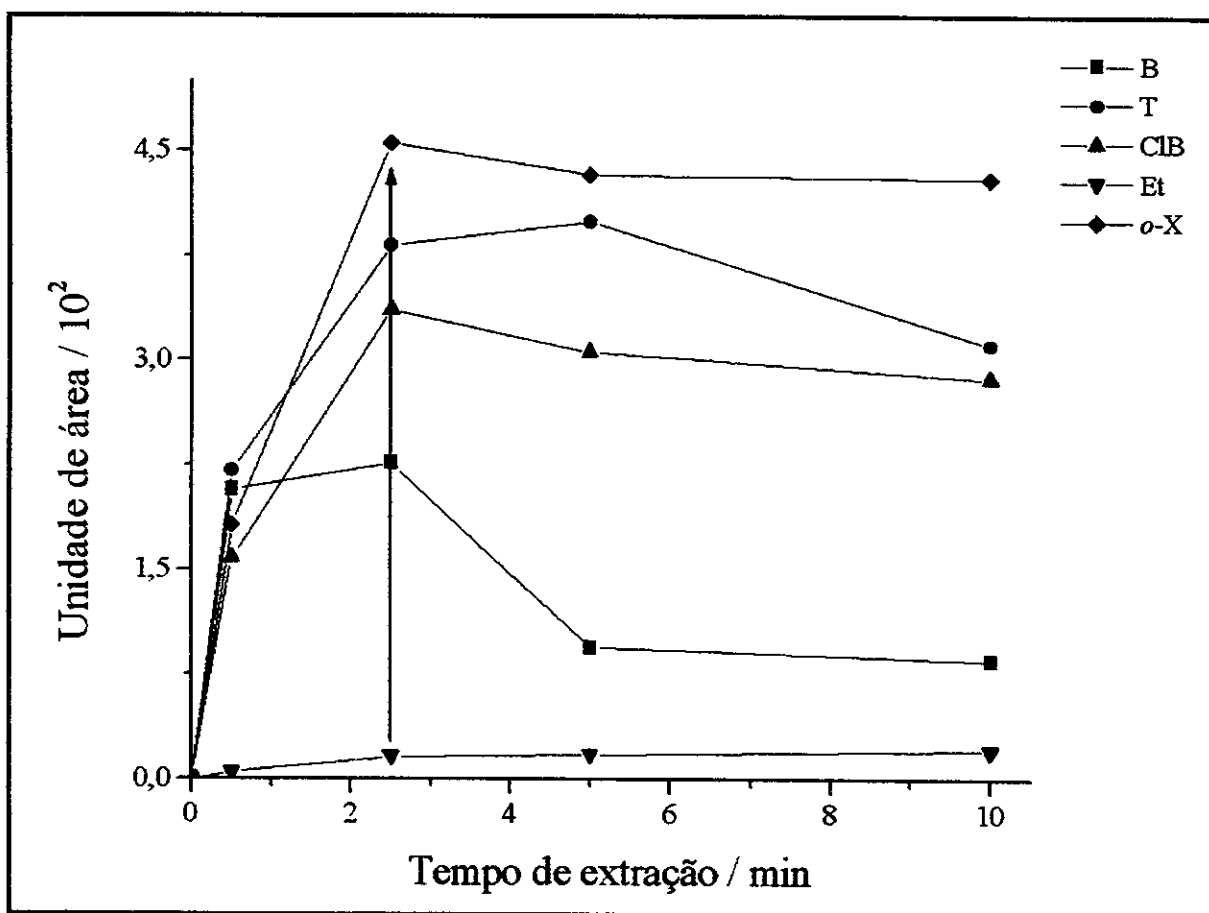
**Figura 23:** Determinação do tempo de pré-equilíbrio de extração por HS-SPME de 1 g solo dopado com  $100 \text{ ng g}^{-1}$  de: ■- B: benzeno; ●- T: tolueno; ▲-ClB: clorobenzeno; ▼- Et: etilbenzeno; ◆- o-X: o-xileno. Fibra de  $65 \text{ }\mu\text{m}$  de PDMS / DVB.



**Figura 24:** Determinação do tempo de extração por HS-SPME de 1 g de solo dopado com 100 ng g<sup>-1</sup> de: -■- B: benzeno; -●- T: tolueno; -▲- ClB: clorobenzeno; -▼- Et: etilbenzeno; -◆- o-X: o-xileno. Fibra de 65 µm de PDMS / DVB.

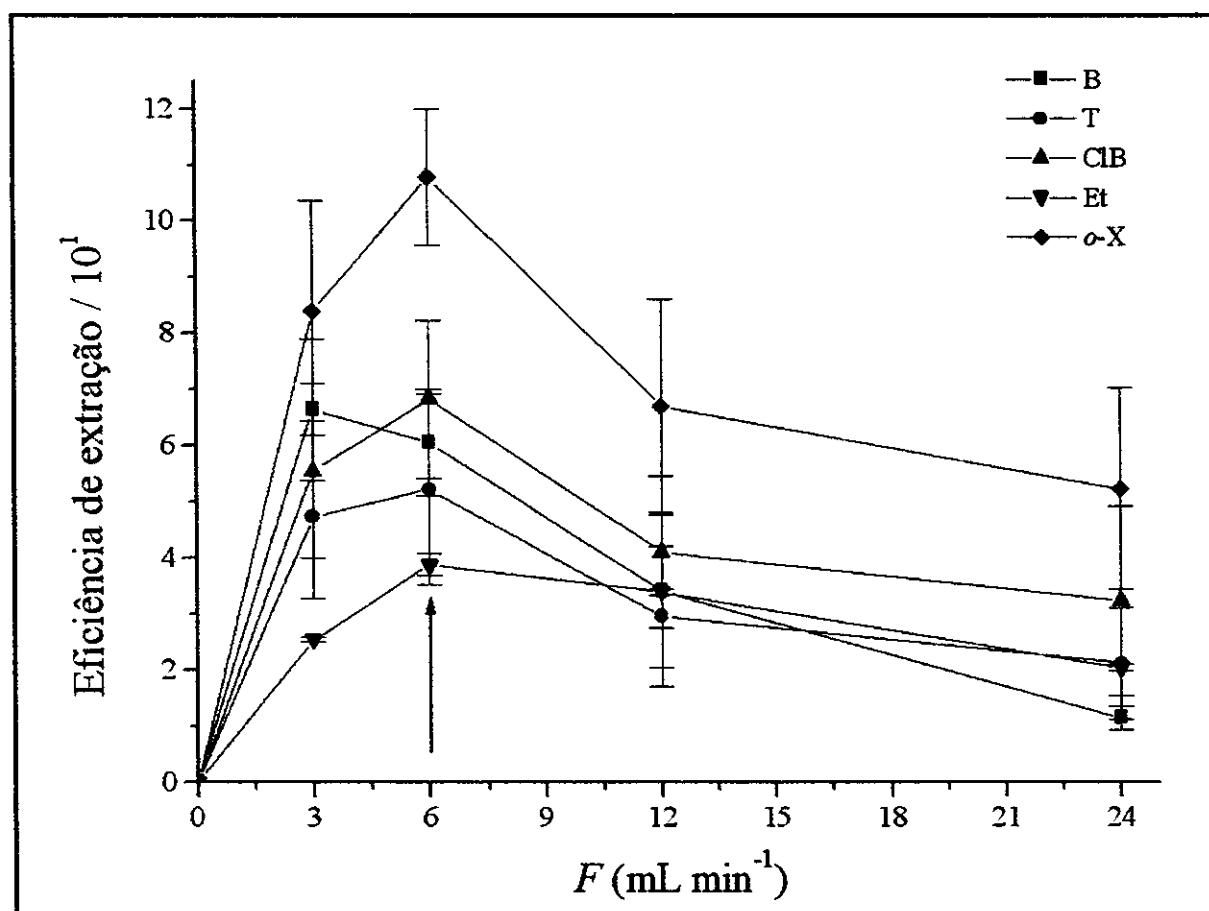
Os tempos de pré-equilíbrio e de extração foram estabelecidos como sendo 7,5 min e 10 min respectivamente. A precisão expressa como estimativa dos desvios padrão relativos foram de 0,8 % a 18,3% para ambos os tempos determinados (n = 3).

Na extração com o sistema de DHS-SPME foram avaliados diferentes vazões de gás de *stripping* e tempos de extração. A Figura 25 mostra o perfil do melhor tempo de extração obtido com vazão fixa de 12 mL min<sup>-1</sup> ao DHS-SPME.



**Figura 25:** Perfil de extração dos compostos orgânicos voláteis em solo por DHS-SPME,  $F = 12 \text{ mL min}^{-1}$ . Fibra de  $65 \mu\text{m}$  de PDMS / DVB utilizada na extração de 1 g de solo dopado com  $100 \text{ ng g}^{-1}$  de: -■- B: benzeno; -●- T: tolueno; -▲- ClB: clorobenzeno; -▼- Et: etilbenzeno; -◆- o-X: o-xileno ( $n = 1$ ).

Já na Figura 26 mostra o perfil de extração obtido para a determinação da máxima eficiência de extração obtida pela equação 18 em relação às vazões aplicadas de 3, 6, 12 e  $24 \text{ mL min}^{-1}$  com 2,5 min de extração determinados no perfil de extração da Figura 25.



**Figura 26:** Determinação da eficiência de extração por DHS-SPME com a fibra 65  $\mu\text{m}$  de PDMS / DVB com diferentes  $F$  de gás de *stripping*. Extração de 1 g de solo dopado com 100  $\text{ng g}^{-1}$  de: -■- B: benzeno; -●- T: tolueno; -▲- ClB: clorobenzeno; -▼- Et: etilbenzeno; -◆- o-X: o-xileno ( $n = 2$ ).

A estimativa dos desvios padrão relativos permaneceu entre 0,1 a 19,6 %. Com base nas Figuras 25 e 26, estabeleceram-se o  $t_{\text{ex}}$  de 2,5 min e  $F$  6  $\text{mL min}^{-1}$  como ótimos.

A Tabela 8 apresenta os parâmetros das curvas analíticas obtidas por extrações realizadas com o dispositivo de DHS-SPME e por HS-SPME nas condições ótimas.

**Tabela 8:** Parâmetros das curvas analíticas obtidos da extração por DHS-SPME e HS-SPME de solo dopados com compostos orgânicos voláteis de 1 ng g<sup>-1</sup> a 20 ng g<sup>-1</sup>.

|           | DHS-SPME   |            |           |           |             |
|-----------|------------|------------|-----------|-----------|-------------|
|           | B          | T          | ClB       | Et        | <i>o</i> -X |
| <b>a</b>  | 4,6 ± 0,1  | 11,1 ± 0,3 | 5,9 ± 0,2 | 0,4 ± 0,2 | 9,3 ± 0,2   |
| <b>b</b>  | 1,2 ± 0,8  | 31 ± 3     | 9,0 ± 1,3 | 11 ± 2    | 7 ± 2       |
| <b>r</b>  | 0,9995     | 0,9989     | 0,9993    | 0,7505    | 0,9990      |
| <b>LD</b> | 0,54       | 0,82       | 0,65      | 14        | 0,78        |
|           | HS-SPME    |            |           |           |             |
| <b>a</b>  | 5,3 ± 0,1  | 10,5 ± 0,3 | 4,5 ± 0,1 | 0,4 ± 0,1 | 4,0 ± 0,1   |
| <b>b</b>  | -3,5 ± 2,0 | 62,8 ± 3,2 | 65 ± 1    | 21 ± 2    | 12 ± 1      |
| <b>r</b>  | 0,9984     | 0,9986     | 0,9991    | 0,8300    | 0,9990      |
| <b>LD</b> | 0,96       | 0,91       | 0,72      | 11        | 0,79        |

**Nota:** **a** = inclinação; **b** = intercepto; **r** = coeficiente de correlação e **LD** = limite de detecção (ng g<sup>-1</sup>). B = benzeno; T = tolueno; ClB = clorobenzeno; Et = etilbenzeno; *o*-X = *o*-xileno. DHS-SPME – tempo de extração 2,5 min e *F* de gás de *stripping* de 6 mL min<sup>-1</sup>; HS-SPME – 7,5 min de equilíbrio amostra/HS e 10 min de extração.

Verifica-se que DHS-SPME proporcionou melhores sensibilidades para tolueno, clorobenzeno e *o*-xileno. Bons coeficientes de correlação foram obtidos para

todos os analitos, exceto para o etilbenzeno com 0,7505. Os LD foram melhores ou de mesma ordem de grandeza, comparando DHS-SPME e HS-SPME. A confiabilidade de DHS-SPME comparada a HS-SPME foi estabelecida pela determinação da percentagem de recuperação de amostras de solo dopados com  $3 \text{ ng}^{-1}$  e quantificadas usando curvas construídas seis meses antes (Tabela 9).

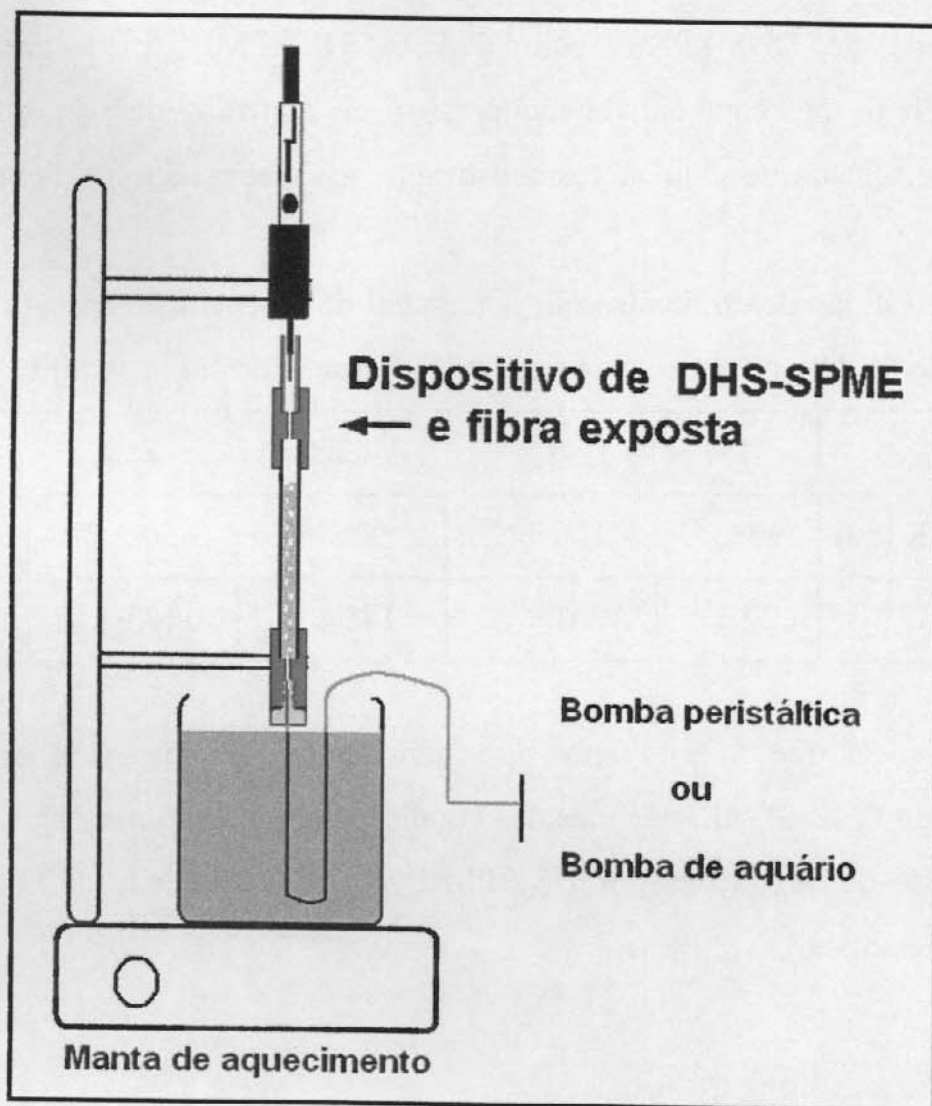
**Tabela 9:** Exatidão determinada pelo percentual de recuperação do solo dopado em concentração de  $3 \text{ ng g}^{-1}$  após seis meses de construção da curva analítica ( $n = 2$ ).

|                     | <b>B</b>    | <b>T</b>    | <b>CIB</b>  | <b>EtB</b>   | <b>o-X</b>  |
|---------------------|-------------|-------------|-------------|--------------|-------------|
| <b>DHS-SPME (%)</b> | $99 \pm 5$  | $100 \pm 3$ | $90 \pm 1$  | $650 \pm 28$ | $97 \pm 17$ |
| <b>HS-SPME (%)</b>  | $132 \pm 7$ | $201 \pm 8$ | $178 \pm 4$ | $1783 \pm 8$ | $78 \pm 4$  |

Verifica-se que mesmo após um período de seis meses a aplicação do dispositivo de DHS-SPME, nas mesmas condições anteriores apresenta uma melhor confiabilidade que extrações por HS-SPME sem a necessidade da construção de nova curva analítica.

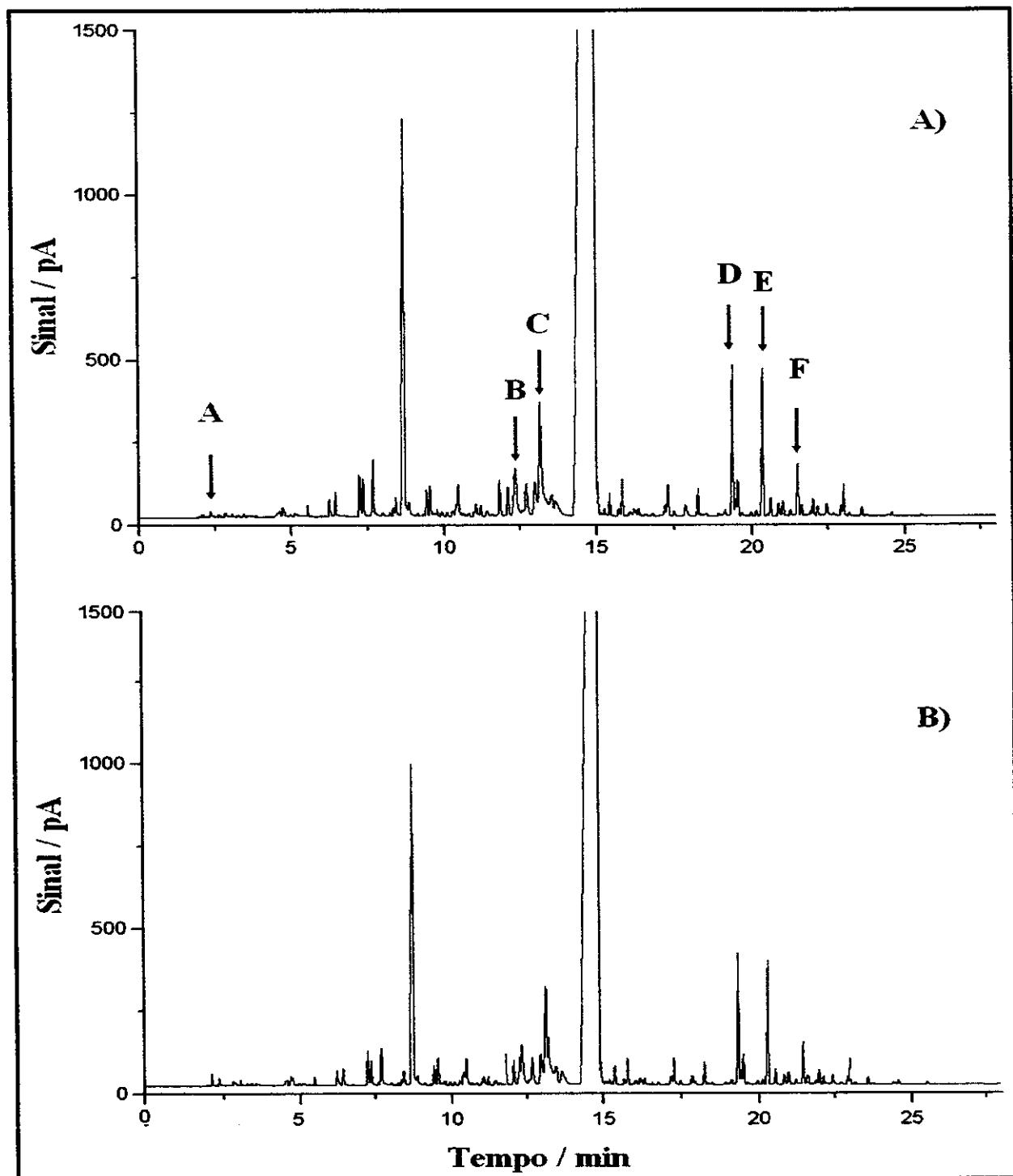
#### 2.4.4 Extrações de voláteis em folhas secas de hortelã.

As extrações de compostos voláteis de folhas de hortelã por HS-SPME foram realizadas com tempos de extração de 10 a 40 min e à temperatura ambiente. Já para as extrações em DHS-SPME foram testadas extrações à temperatura ambiente e sob aquecimento com diferentes vazões do gás de *stripping*. A Figura 27 mostra a versão do sistema de DHS-SPME com aquecimento do gás de *stripping*.



**Figura 27:** Sistema para DHS-SPME com gás de *stripping* aquecido. Bomba de aquário e bomba peristáltica usada para propulsão do gás de *stripping*.

A Figura 28 apresenta os cromatogramas das extrações por HS-SPME e para DHS-SPME com bomba peristáltica como propulsora usando vazão de gás de *stripping* de  $12 \text{ mL min}^{-1}$ , sem aquecimento e com 40 min de extração para ambos os métodos. A fibra utilizada foi a de  $65 \mu\text{m}$  de PDMS / DVB.



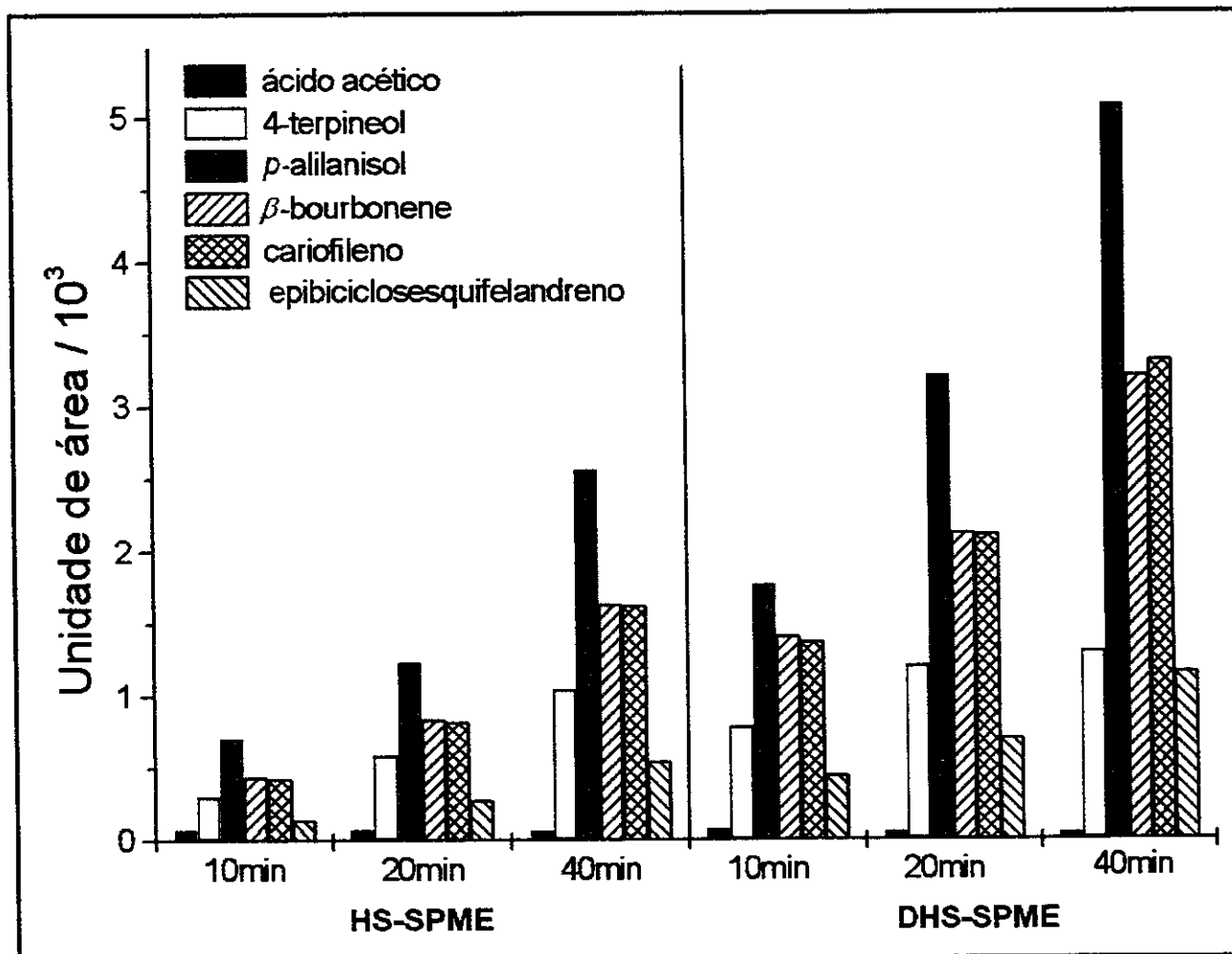
**Figura 28:** Cromatogramas obtidos por (A) DHS-SPME ( $F=12 \text{ mL min}^{-1}$ ) e (B) HS-SPME da extração de 0,5 g de hortelã, por 40 min com fibra de 65  $\mu\text{m}$  de PDMS / DVB. A = ácido acético; B = 4-terpineol; C = *p*-alilanol; D =  $\beta$ -bourboneno; E = cariofileno e F = epibiciclosesquifelandreno.

Os compostos marcados no cromatograma da Figura 28 (A) por A, B, C, D, E e F foram monitorados e a área cromatográfica obtida em relação à massa extraída foi comparada a das extrações realizadas por DHS-SPME.

Para confirmação dos compostos monitorados, análises cromatográficas foram realizadas em um GC 2100/ITMS Saturn (Varian, Associates, Sunnydale, CA) equipado com injetor SPI (injetor com purga de septo), gás de arraste Hélio, e coluna HP-1 (30 m x 0,25 mm x 0,25  $\mu$ m). A identificação dos compostos monitorados na extração por HS-SPME foi realizada através de comparação com os espectros de massas obtidos da biblioteca NIST98 em níveis de confiança acima de 80 %.

No Apêndice A são mostradas os espectros de massas obtidos dos compostos comparados aos da NIST98.

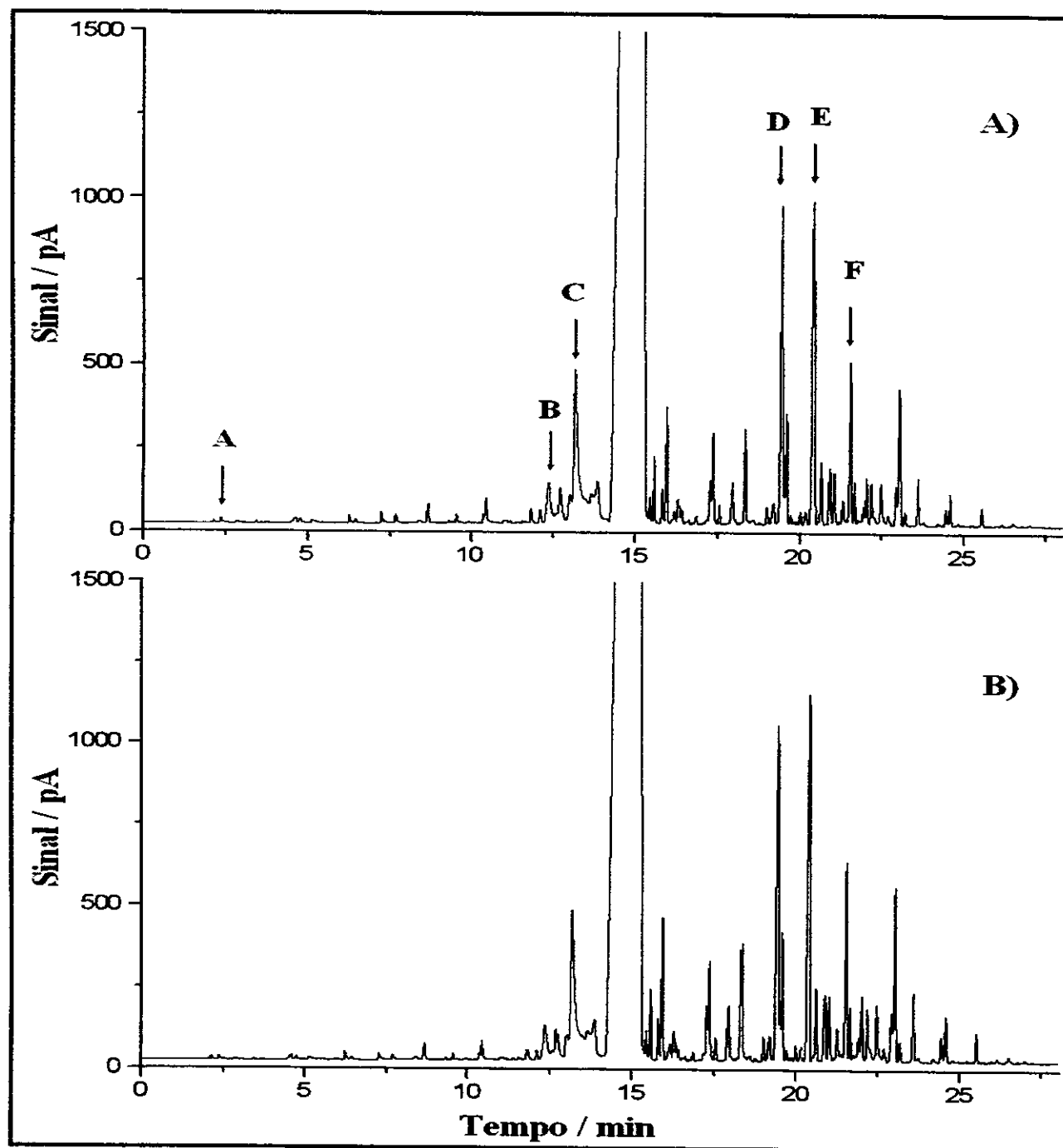
A Figura 29 compara as áreas dos picos monitorados por DHS-SPME e HS-SPME, em tempos de extrações variados utilizando-se o GC-FID.



**Figura 29:** Comparação das áreas dos compostos monitorados por HS-SPME e DHS-SPME.  $F = 12 \text{ mL min}^{-1}$  de gás de *stripping* sem aquecimento.

Verifica-se que para todos os tempos de extrações a eficiência obtida por DHS-SPME é maior que a de HS-SPME.

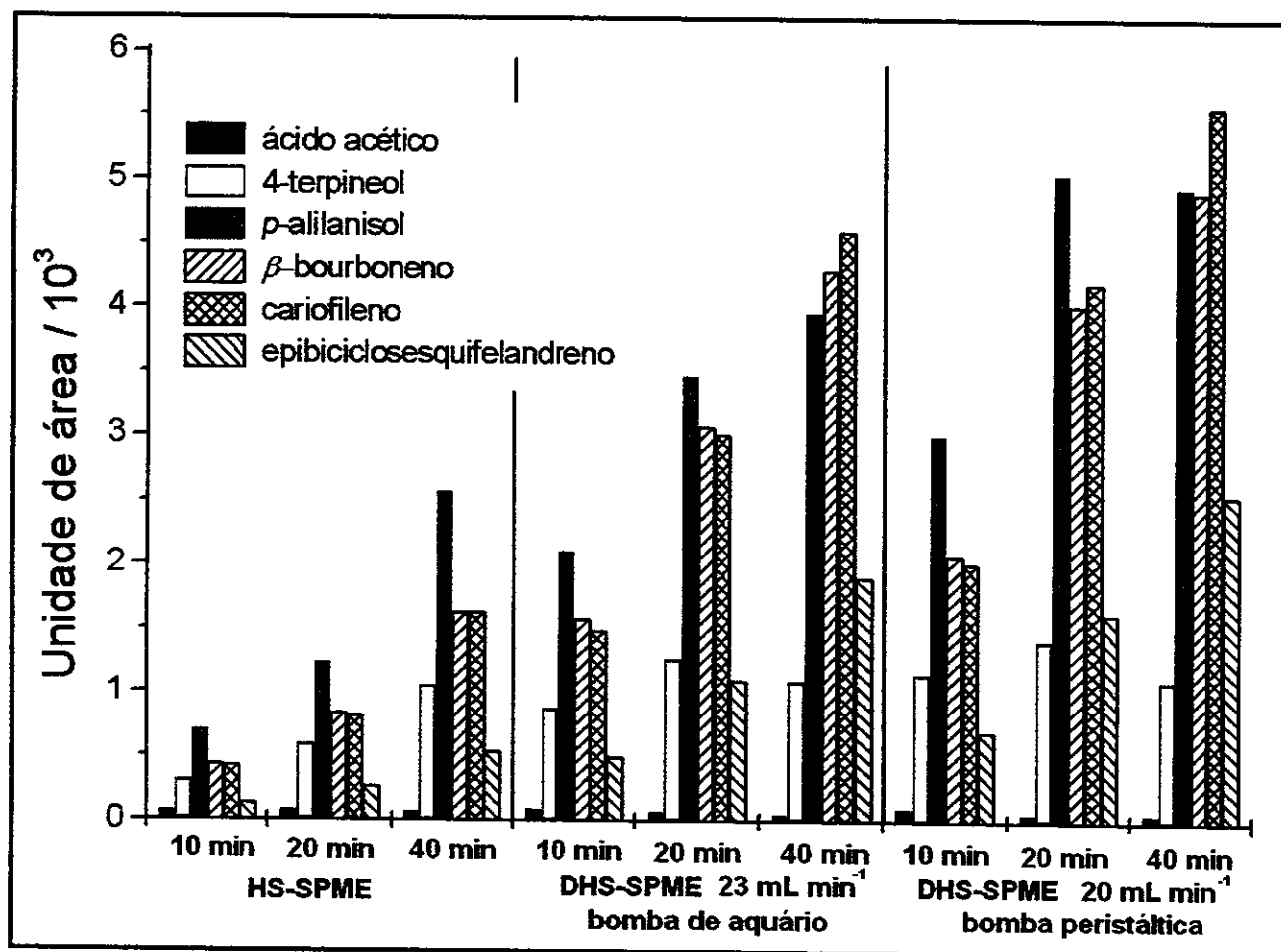
Na Figura 30 são mostradas extrações por DHS-SPME com tempo de 40 min utilizando-se bomba de aquário e bomba peristáltica com aquecimento do gás de *stripping*.



**Figura 30:** Cromatogramas obtidos da extração de hortelã por 40 min com dispositivo de DHS-SPME: **A)** com bomba de aquário e gás de *stripping* aquecido ( $F = 23 \text{ mL min}^{-1}$ ); **B)** com bomba peristáltica e gás de *stripping* aquecido ( $F = 20 \text{ mL min}^{-1}$ ). **A** = ácido acético; **B** = 4-terpineol; **C** = *p*-alilanisol; **D** =  $\beta$ -bourboneno; **E** = cariofileno e **F** = epibiciclosesquifelandreno.

Verifica-se que os perfis cromatográficos obtidos com bomba peristáltica e bomba de aquário com  $F$  de gás de *stripping* próximas são muito semelhantes quando comparados entre si. Para os compostos de mais pesados (de maiores tempo de retenção) a um grande aumento de massa extraída pela fibra. Entretanto, para compostos mais leves (os de menores tempo de retenção), estes são dessorvidos da fibra devido ao grande tempo de exposição da fibra ao fluxo de gás de *stripping*.

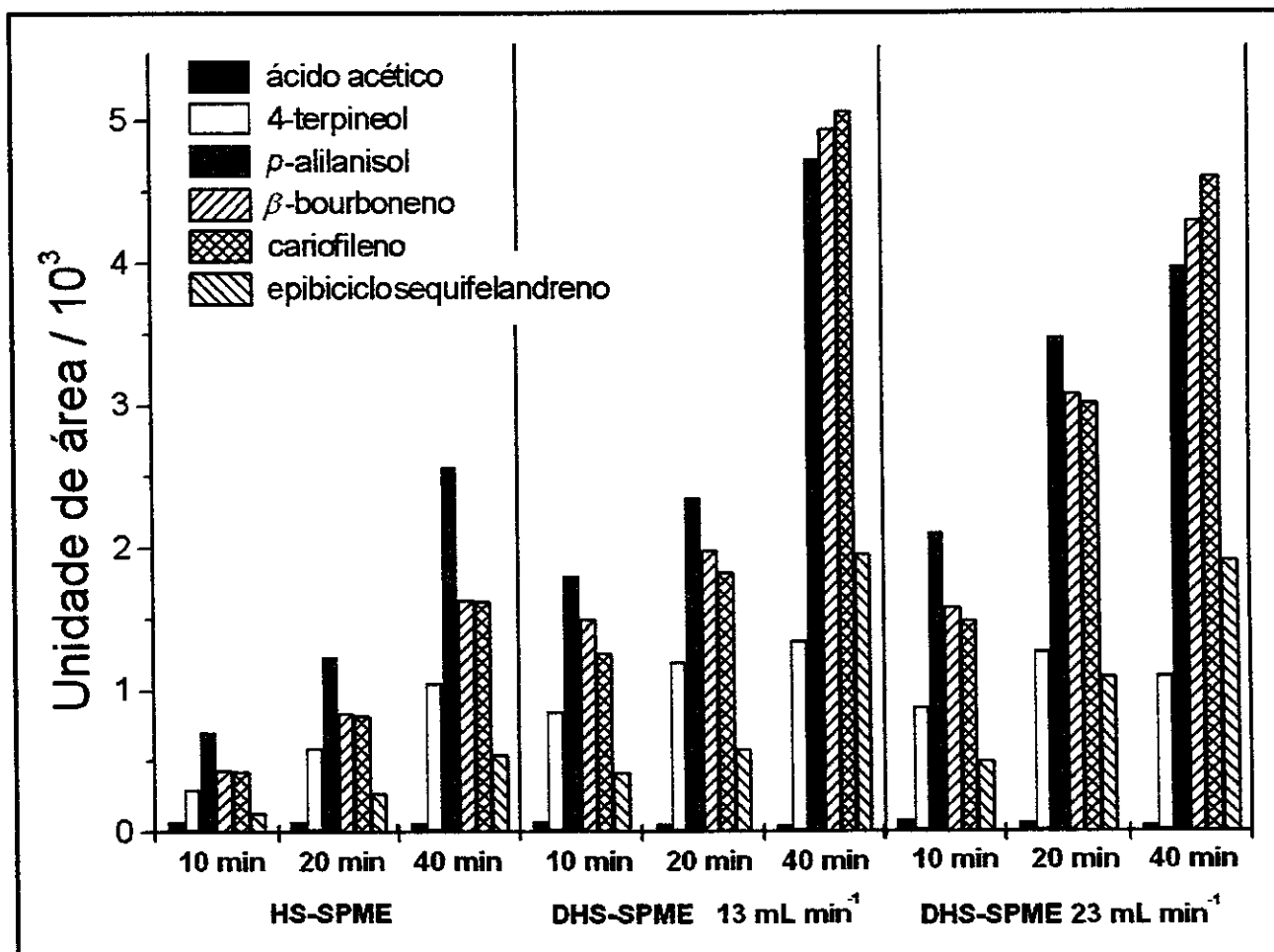
A Figura 31 mostra uma comparação das áreas dos compostos monitorados com extração por DHS-SPME com bomba peristáltica e bomba de aquário em diferentes tempos e comparadas a extrações por HS-SPME nos mesmos tempos.



**Figura 31:** Comparação das áreas dos compostos monitorados por HS-SPME e DHS-SPME com bomba de aquário e bomba peristáltica em diferentes tempos de extração.

Na comparação entre as extrações realizadas verifica-se que há um aumento na massa extraída nos diferentes tempos de extração para DHS-SPME quando comparados as extrações realizadas por HS-SPME.

A Figura 32 mostra uma comparação de extrações realizadas por HS-SPME e DHS-SPME utilizando-se somente bomba peristáltica com a aplicação de diferentes vazões de gás de *stripping*.



**Figura 32:** Comparação de áreas obtidas por HS-SPME e DHS-SPME, com gás de *stripping* aquecido e propulsão por bomba de aquário.

Verifica-se que nas extrações com propulsão de gás de *stripping* pela bomba de aquário também são obtidas maiores eficiências que nas extrações realizadas por HS-SPME. Essas otimizações de  $F$ ,  $t_{ext}$  e aquecimento do gás de *stripping* permitem determinar um aumento na massa extraída em menores tempos.

## 2.5 CUSTOS PARA MONTAGEM DO DISPOSITIVO DE DHS-SPME.

Para o uso do dispositivo de DHS-SPME foram testadas três possibilidades de propulsão do gás de *stripping* para a extração dos voláteis. O uso de um gás inerte

pode ser favorável quando da necessidade de aplicação do dispositivo a amostras contenham analitos passíveis de oxidação. As outras duas variantes (com bomba de aquário e bomba peristáltica) usam ar obtido do próprio ambiente como gás de *stripping* e também permitem variação nas vazões aplicadas. Entretanto, a maior diferença entre as três variantes seria o custo de montagem. A Tabela 10 mostra os custos estimados para a montagem de cada um deles.

**Tabela 10:** Custos dos materiais dos dispositivos estudados em relação ao gás de stripping a ser utilizado.

| <b>Materiais para DHS-SPME</b>                                           |                |              |                 |                      |                |
|--------------------------------------------------------------------------|----------------|--------------|-----------------|----------------------|----------------|
| Rotâmetro                                                                | US\$ 123       | Bomba        | US\$ 441        | Bomba de             | R\$ 15         |
|                                                                          |                | peristáltica |                 | aquário (1,5 W)      |                |
| Válvula                                                                  | US\$ 113       | Tubo de      | R\$ 50,00       | Transformador de     | R\$ 45         |
| abre/fecha                                                               |                | Teflon       |                 | baixa voltagem       |                |
| (1/8" Togle)                                                             |                | (20cm)       |                 | (15, 24, 38, e 48 V) |                |
| N <sub>2</sub> (9 m <sup>3</sup> )                                       | R\$ 200        |              |                 |                      |                |
| Tubo de Teflon                                                           | R\$ 50         |              |                 | Tubo de Teflon       | R\$ 50         |
| (20 cm)                                                                  |                |              |                 | (20 cm)              |                |
| <b>Total</b>                                                             | <b>R\$ 956</b> | <b>Total</b> | <b>R\$ 1373</b> | <b>Total</b>         | <b>R\$ 110</b> |
| <b>Extração por HS-SPME</b>                                              |                |              |                 |                      |                |
| Agitador magnético e frascos próprios para extrações em HS-SPME R\$ 1500 |                |              |                 |                      |                |

Observa-se que os custos estimados, para construção do dispositivo portátil com a utilização da bomba de aquário e com os transformadores de baixa voltagem, mesmo quando comparado às extrações pelo método convencional de HS-SPME se torna viável na montagem e aplicação a trabalhos intralaboratoriais e a amostragem de campo.

# **CAPÍTULO III**

## ***ACOPLAMENTO DIRETO ENTRE SPME E ESPECTROMETRIA DE MASSAS***

### 3.1 INTRODUÇÃO.

O primeiro acoplamento “quase direto” de SPME e MS para análises de compostos orgânicos foi proposto, por Peres et al.<sup>67</sup> Em um sistema de GC-MS, a coluna cromatográfica foi substituída por um pedaço de tubo capilar de sílica não revestida de 1 m, que funcionava como linha de transferência para analitos dessorvidos de uma fibra inserida no injetor do GC. Esta técnica foi aplicada na caracterização da fração de voláteis de amostras de queijo através dos fragmentogramas (*finger print*) obtidos.

Todavia, em outras técnicas como Espectrometria de Massas por Introdução de Membrana (MIMS),<sup>68-71</sup> dispositivos próprios permitem a extração e pré-concentração de compostos orgânicos com introdução direta na fonte de ionização do espectrômetro de massas, obtendo-se grande sensibilidade e detectabilidade.

Recentemente, foi proposto o primeiro acoplamento direto verdadeiro entre SPME e MS. Nesta técnica, denominada de FIMS (Espectrometria de Massas por Introdução via Fibra), a fibra de SPME contendo materiais extraídos é inserida diretamente no interior da fonte de ionização do espectrômetro de massas, entre os filamentos aquecidos.<sup>72</sup> Esses trabalhos iniciais envolveram o projeto e construção de um holder próprio para o acoplamento, e alguns ensaios preliminares com analitos de teste.

Em FIMS, a combinação do alto vácuo e aquecimento pela radiação dos filamentos do espectrômetro de massas causam dessorção uniforme dos analitos da fibra, que são imediatamente ionizados produzindo fragmentos iônicos característicos.

No trabalho inicial citado (ref. 72) somente fibras de 100  $\mu\text{m}$  de PDMS foram utilizadas. Observando-se a potencialidade de FIMS, serão mostrados aqui a continuação destes estudos com testes de diferentes fibras comerciais (a de PDMS / DVB e Carbowax / DVB de 65  $\mu\text{m}$ ), e também a aplicação de uma fibra feita no laboratório a partir de processos sol-gel e recoberta com polidimetilsiloxano / álcool polivinílico (PDMS / PVA).<sup>74</sup>

## 3.2 MATERIAIS E MÉTODOS.

### 3.2.1 Equipamentos.

- Espectrômetro de Massas Extrel (Pittsburgh, PA) monoquadrupolar;
- Agitador magnético Mirak foi utilizado para extrações em HS-SPME;

### 3.2.2 Reagentes.

- Metanol, (Tedia, Rio de Janeiro, Brasil);

#### - Ésteres de ácido ftálico:

- Dimetilftalato, 99 % (ChemService, Westchester);
- Dietilftalato, 99% (Acros, USA);
- Dipropilftalato, 99% (Kodak, USA);

#### - Pesticidas clorados e fosforados:

- Malation, 99 % (ChemService, Westchester);
- $\alpha$ -endosulfan, 99 % (ChemService, Westchester);
- Metilparation, 99 % (ChemService, Westchester);
- Clorotalonil, 99 % (ChemService, Westchester);
- Fention, 99 % (ChemService, Westchester);

### 3.2.3 Amostras

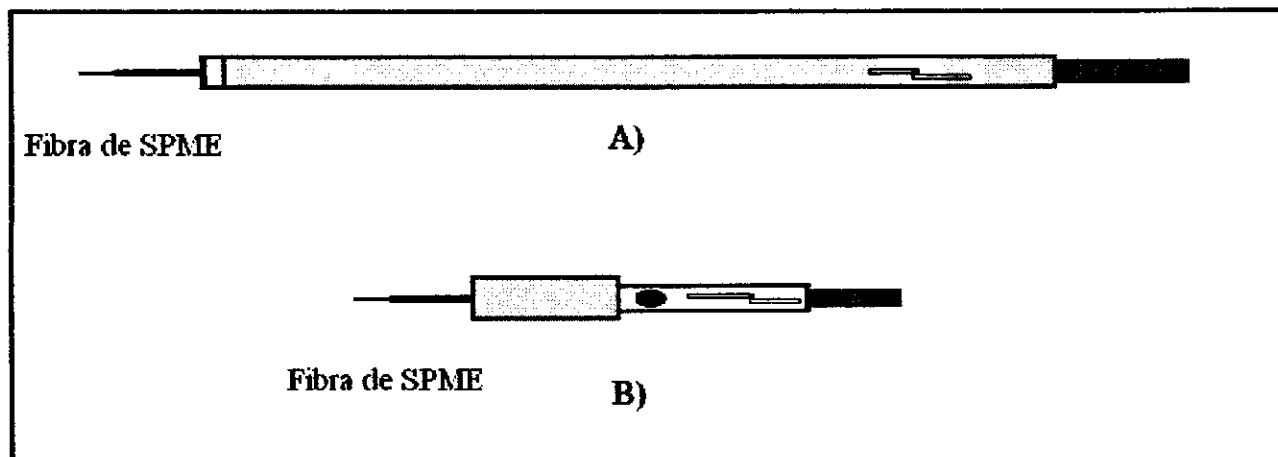
- Amostras comerciais de água mineral sem gás envasadas em frascos de PET.
- Folhas secas de maracujá (*Passiflora edulis*), sem agrotóxicos, e para uso fitoterápico obtidas de cultivo na região da cidade de Ribeirão Preto (SP). As plantas foram secas (35 °C por 24 horas), trituradas e peneiradas (1-2 mm) para estocagem em frascos de vidros protegidos de umidade, aquecimento e luz.

### 3.2.4 Microextração em Fase Sólida.

- Fibras recobertas com 100 µm de polidimetilsiloxano (PDMS), 65 µm de PDMS / divinilbenzeno (PDMS / DVB) e 65 µm de Carbowax / divinilbenzeno (Carbowax / DVB) foram obtidas da Supelco Inc., (Bellefont – PA, EUA). Uma fibra recoberta com ~ 5 µm de PDMS / álcool polivinílico (PDMS / PVA), preparada a partir de processo sol-gel por procedimento descrito (ref 74).
- Um aplicador (holder) especial para FIMS foi construído para extrações com as fibras de SPME e introdução direta no espectrômetro de massas.
- Frascos de 16 mL com septo de teflon e tampas de rosca próprios para SPME foi utilizado em extrações por HS-SPME;

### 3.2.5 Aplicador para SPME-MS.

A Figura 33 mostra o aplicador desenvolvido propriamente para inserção direta das fibras de SPME no espectrômetro de massas em comparação ao aplicador comercial convencional para SPME.



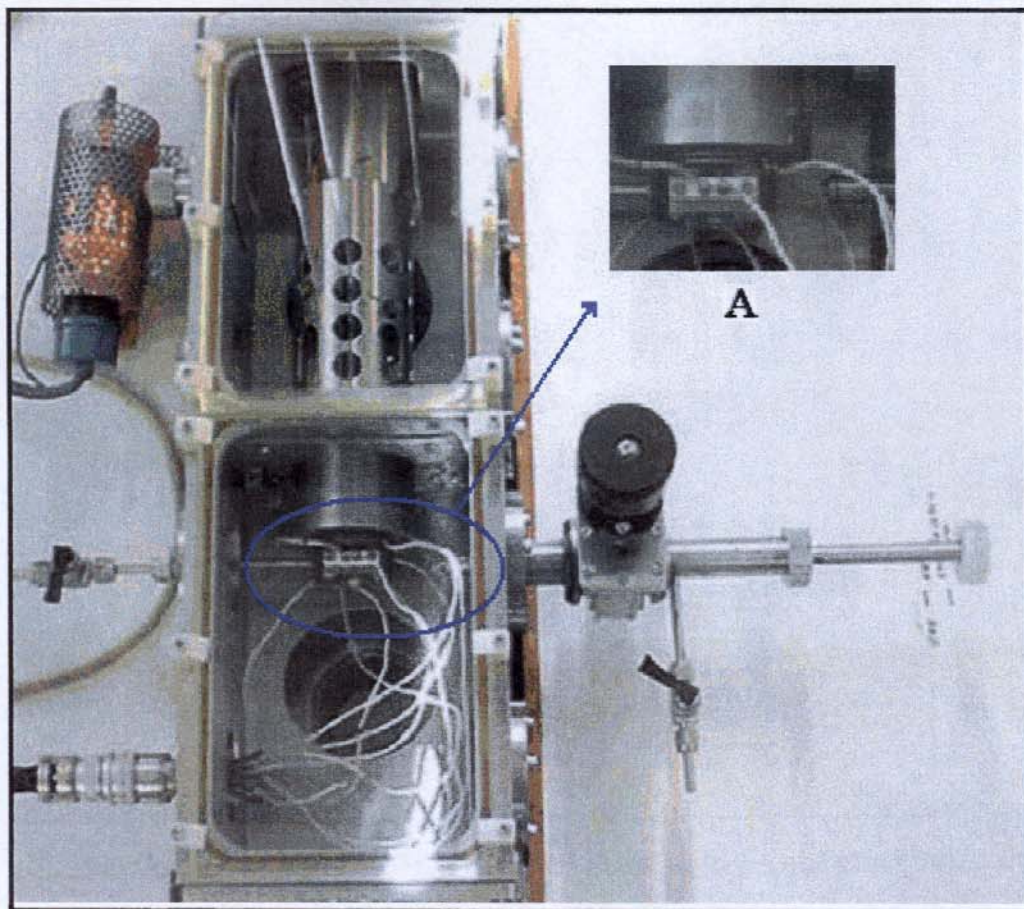
**Figura 33:** A) Aplicador desenvolvido para inserção direta das fibras de SPME no espectrômetro de massas. B) Aplicador comercial.

O aplicador para FIMS apresenta aproximadamente o dobro do comprimento de um aplicador comercial. Entretanto, o princípio de funcionamento é o mesmo de um aplicador comercial, sendo para adaptação das fibras de SPME em sua extremidade apenas pela utilização de um sistema de porca e arruela para fixação da fibra.

### 3.2.6 Interface SPME-MS.

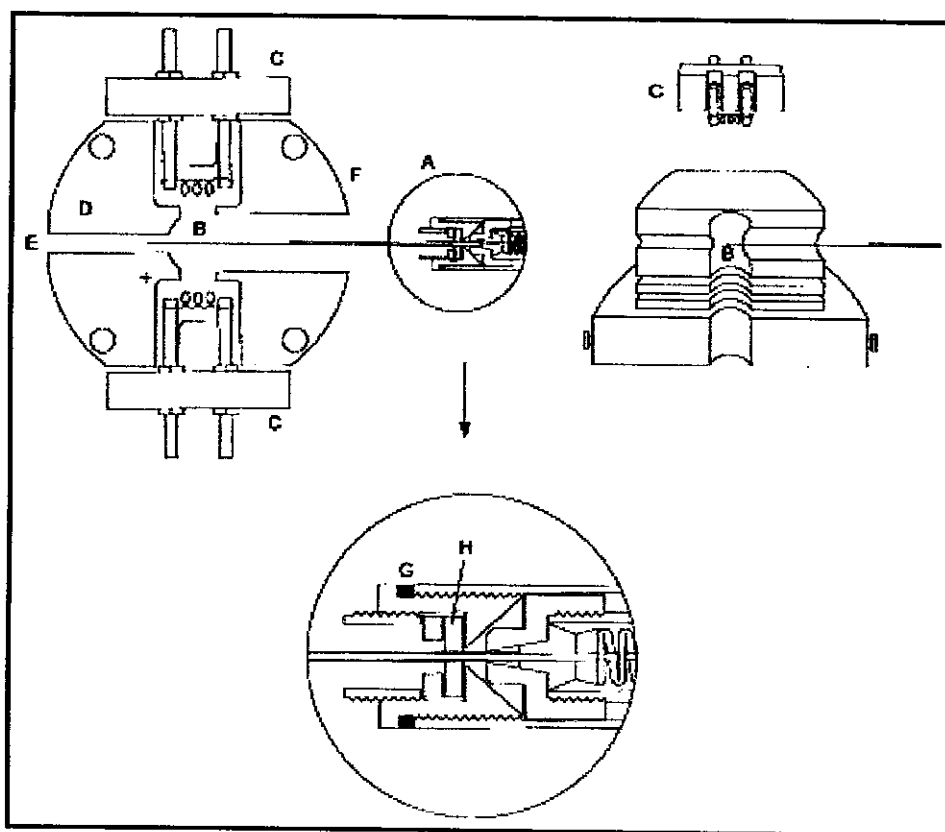
Nas últimas décadas a MS se tornou uma das técnicas mais importantes na comunidade científica devido à grande evolução na capacidade de ionização de átomos e moléculas de alta massa molar por diferentes meios. Um dos métodos mais simples de ionização em MS é a ionização por elétrons (EI), na qual a energia emitida de 70 eV pelos filamentos do espectrômetro de massas, sob alto vácuo, favorece a retirada de um elétron e a fragmentação de moléculas ionizadas. Conseqüentemente a razão  $m/z$  dos íons é obtida e também estruturas individuais de cada uma das moléculas.

A Figura 34 mostra o espectrômetro de massas Extrel monoquadrupolar usado nos ensaios. A região ampliada de A mostra o bloco da fonte de ionização e a ponta da sonda no qual é inserida a agulha da fibra de SPME chegando à fonte de ionização para exposição.



**Figura 34:** Espectrômetro de massas monoquadrupolar Extrel, utilizado no acoplamento com SPME. A) região ampliada da fonte de ionização na qual são inseridas as fibras de SPME através da sonda pelo aplicador.

Para a introdução da fibra através do holder projetado, uma sonda constituída de um tubo de aço inoxidável de  $\frac{1}{2}$  polegada foi utilizada juntamente com um septo de silicone (utilizado em GC), que foi adaptado na ponta da sonda por um sistema de arruela e parafuso, que separa o ambiente do alto vácuo do espectrômetro de massas. A Figura 35 apresenta o esquema da interface desenvolvida, com maiores detalhes, para introdução da fibra entre os filamentos do espectrômetro de massas.



**Figura 35:** Dois diferentes ângulos de visão e secções transversais do sistema SPME-MS. (A) secção transversal parcial da extremidade do holder de SPME-MS introduzido na sonda; (B) recobrimento da fibra de SPME no local da dessorção térmica e ionização do analito; (C) dois filamentos padrão para EI (e aquecimento); (D) bloco da fonte de ionização padrão Extrel MS; (E) linha de entrada de gás para ionização química; (F) linha de entrada de gás alargada para  $\frac{1}{4}$  de polegada para permitir a introdução da amostra, da sonda de MIMS e de FIMS; (G) “o-ring” para vedação da sonda de SPME-MS; (H) septo de silicone de GC para vedação durante a introdução da agulha da fibra de SPME.

Na Figura 35, a fonte de íons (D) foi utilizada com algumas modificações. O diâmetro interno de uma das duas linhas de entrada de gás (E e F) foi alargado para  $\frac{1}{4}$ ” (F) para permitir a introdução da agulha de SPME. Inicialmente, o guia é adaptado a uma das entradas de amostra do espectrômetro de massas e, desta forma,

o sistema de injeção de amostra está montado. Para a introdução da amostra, o holder é introduzido no guia e a agulha do conjunto de fibra de SPME é posicionada na região de alto vácuo do espectrômetro de massas. Então, a fibra de SPME é exposta à fonte de íons (D e B), sendo aquecida pela radiação dos dois filamentos (C), proporcionando a dessorção dos analitos e a sua ionização simultâneas, por ionização eletrônica (EI) de 70 eV.

### **3.3 Avaliação de diferentes fibras na extração de ésteres de ácido ftálico com detecção por FIMS.**

#### **3.3.1 Ésteres de ácido ftálico.**

Uma solução estoque em metanol de 1000 mg L<sup>-1</sup> de dimetilftalato (DMP), dietilftalato (DEP) e dipropilftalato (DPP) foi preparada para diluição e preparo de soluções aquosas de teste em água deionizada.

As fibras utilizadas na extração dos analitos foram 65 µm de PDMS / DVB, 100 µm PDMS e 65 µm Carbowax / DVB. Todas as fibras foram diretamente condicionadas no injetor de GC seguindo as especificações do fabricante, e limpas por 10 min antes do início de qualquer extração. As extrações foram realizadas por imersão direta das fibras em 10 mL de amostra acondicionadas em frascos de 16 mL e sob agitação (1200 rpm).

### 3.3.2 Detecção.

Em ensaios preliminares, foi feito o registro de fragmentogramas completos, varrendo o sinal do  $m/z$  no modo *full scan* na faixa de 40 a 400 para quantificação.

A detecção foi realizada por monitoramento de íon seletivo (SIM), sendo relacionados os fragmentos com  $m/z$  - 163 (DMP); 177 (DEP) e 209 (DPP). Os sinais obtidos foram transportados para o programa gráfico Origin 6.0. Os dados foram ali processados sendo que do sinal analítico foi obtido a área dos picos formados em cada corrida. No Apêndice B são mostrados as estruturas e os espectros de massas de cada éster ftálico e os íons selecionados para monitoramento por SIM.

### 3.3.3 Seleção das fibras.

Na escolha das melhores fibras foi usada como amostra teste uma solução aquosa com  $50 \mu\text{g L}^{-1}$  dos analitos. O ganho e a voltagem da multiplicadora do espectrômetro de massas foram  $1 \times 10^{11}$  e 1200 V, respectivamente. O tempo de dessorção foi de 40 s e corridas em branco por 20 s eram feitas para verificar possível carryover. Dentre as três fibras avaliadas foram selecionadas as de 65  $\mu\text{m}$  de PDMS / DVB e 65  $\mu\text{m}$  de Carbowax / DVB para os ensaios seguintes.

### 3.3.4 Teste de repetibilidade.

A repetibilidade foi avaliada a partir de extrações da mesma solução teste usada acima, sendo empregadas as fibras PDMS / DVB e Carbowax / DVB de 65  $\mu\text{m}$ .

### 3.3.5 Curvas analíticas.

Foram construídas curvas analíticas na faixa de  $1 \mu\text{g L}^{-1}$  a  $30 \mu\text{g L}^{-1}$  para todos os analitos e nas otimizações de ganho e multiplicadora para a fibra Carbowax / DVB de  $1 \times 10^{12}$  e 1100 V, e para PDMS / DVB com faixa de  $10 \mu\text{g L}^{-1}$  a  $100 \mu\text{g L}^{-1}$  com condições de ganho e multiplicadora em  $1 \times 10^{11}$  e 1200 V, respectivamente. Os limite de detecção e de quantificação foram definidos a partir da razão sinal / ruído, sendo de 3 e 10 vezes respectivamente.

### 3.3.6 Aplicação do método.

Para aplicação da metodologia desenvolvida, os ftalatos em duas amostras de água mineral, foram quantificados utilizando-se a fibra PDMS / DVB. Ensaios de recuperação foram realizados dopando estas amostras com  $25 \mu\text{g L}^{-1}$  dos analitos.

## 3.4. Quantificação em infusos de *P. edulis*.

### 3.4.1 Pesticidas.

Uma solução estoque de  $50 \text{ mg L}^{-1}$  dos pesticidas malation,  $\alpha$ -endosulfan, metilparation, clorotalonil e fention foi preparada em metanol para a dopagem dos infusos.

### 3.4.2 Fibras de SPME.

As extrações dos pesticidas foram realizadas utilizando uma fibra de PDMS / PVA ( $d_f \cong 5 \mu\text{m}$ ). Uma fibra comercial de  $65 \mu\text{m}$  de PDMS / DVB, da Supelco foi obtida para extração e comparação do tempo de dessorção e detecção para o clorotalonil e fention em concentração de  $50 \mu\text{g L}^{-1}$ .

### 3.4.3 Preparo da amostra e extração.

Para o preparo das infusões, 100 mL de água fervente foram adicionados a  $(1,0 \pm 0,1)$  g de folhas secas de *P. edulis* por 5 min. O infuso foi filtrado e foram adicionados 100 mL de solução saturada de NaCl 36 %. Uma alíquota de 5 mL desta amostra foi acondicionada em frascos de 16 mL e dopada com teores da ordem de  $\text{ng mL}^{-1}$  dos pesticidas. A amostra foi agitada a 1200 rpm por 5 min sob aquecimento a  $67,5^\circ\text{C}$ , e a fibra foi exposta por 20 minutos ao seu *headspace* para extração. Em seguida, a fibra foi retraída e inserida diretamente na fonte de ionização do espectrômetro de massas.

### 3.4.4 Avaliação da metodologia analítica.

Curvas analíticas de  $10 \mu\text{g L}^{-1}$  a  $140 \mu\text{g L}^{-1}$  foram construídas para os pesticidas em análise multiresíduo e monoresíduo.

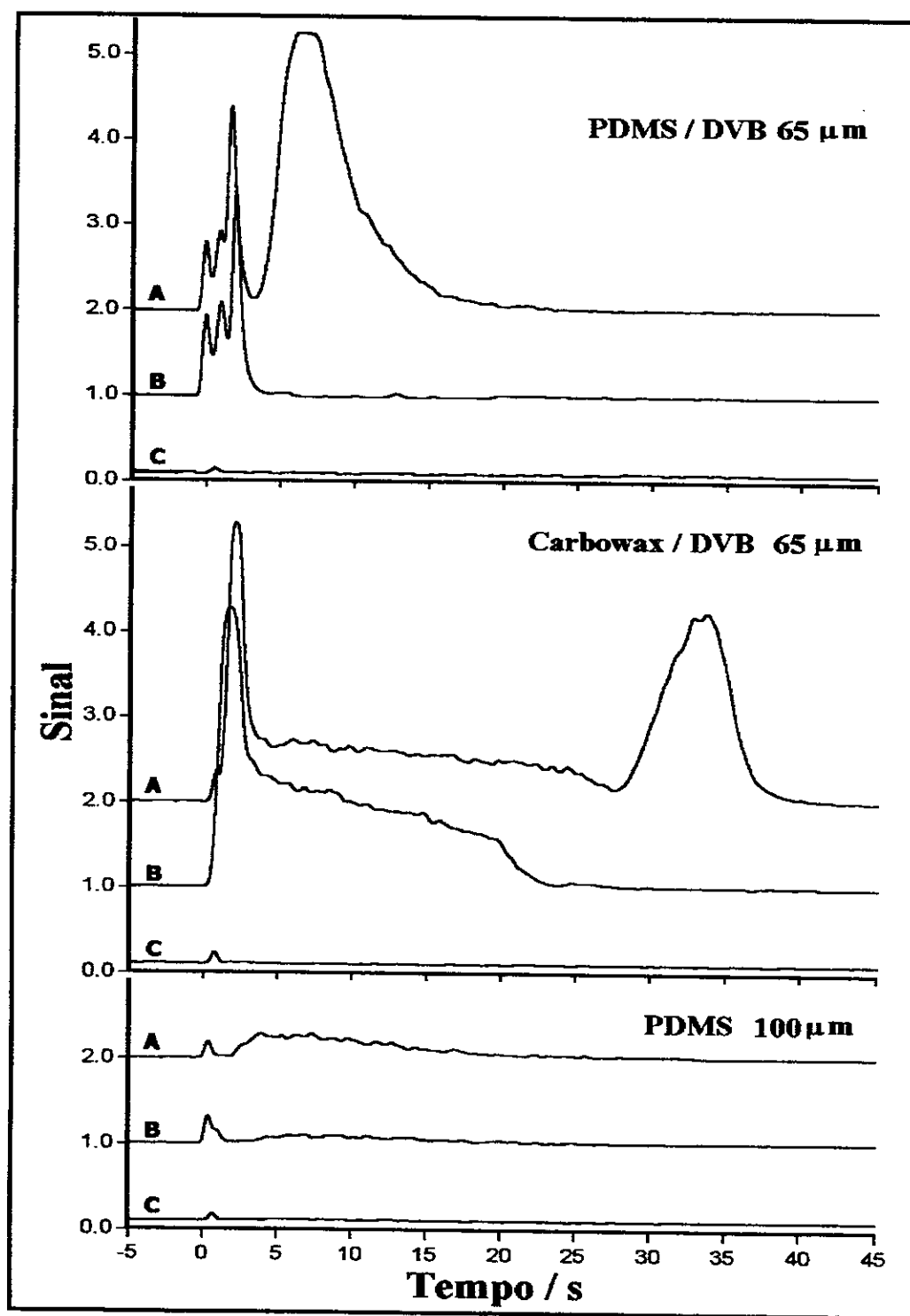
*Método multiresíduo:* Para as análises multiresíduo, os fragmentos iônicos de maior intensidade foram selecionados primeiramente em full scan para cada analito e posteriormente monitorados simultaneamente em modo SIM.

*Método monoresíduo:* Para análise monoresíduo, somente  $\alpha$ -endosulfan e metilparation foram quantificados em análise individuais. Os fragmentos monitorados foram para:  $\alpha$ -endosulfan -  $m/z$  – 195; 241; 277 e 339; e para metilparation -  $m/z$  – 155; 200; 233 e 263 sendo estes selecionados em modo full scan e também posteriormente monitorados em SIM. No método monoresíduo, um fragmento iônico de fundo do chá ( $m/z$  - 121) também foi monitorado.

### **3.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.**

#### **3.5.1 Ésteres de ácido ftálico.**

Na Figura 36 são mostrados os registros de sinal para o monitoramento do DMP ( $m/z$  - 163), após extração com as três fibras de uma solução de  $50 \mu\text{g L}^{-1}$ .



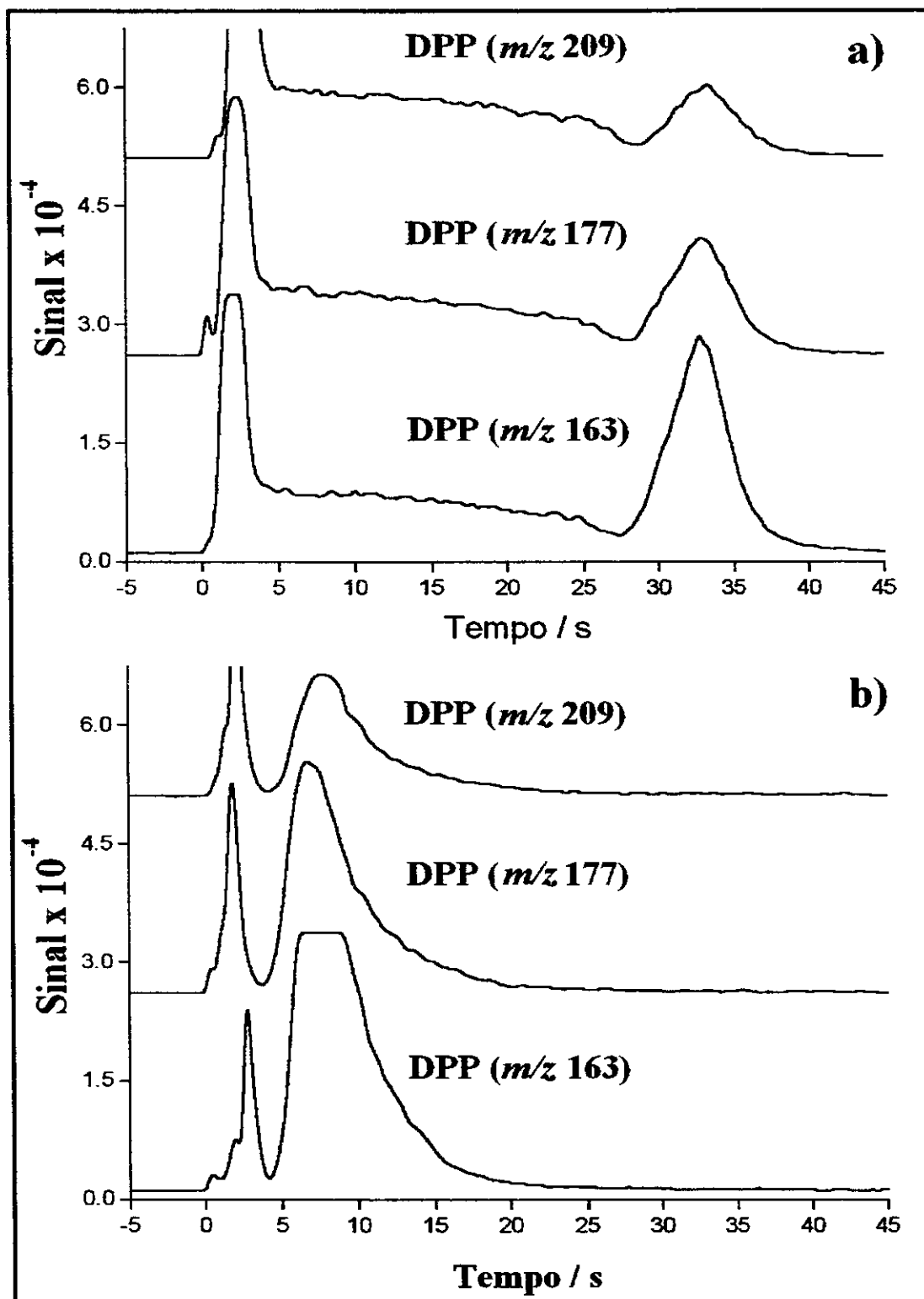
**Figura 36:** A) perfil do sinal para  $50 \mu\text{g L}^{-1}$  para extração de solução aquosa do DMP; B) extração de água desionizada; C) background para as fibras PDMS / DVB; Carbowax / DVB e PDMS. Tempo e escalas de intensidades são os mesmos nas três Figuras com SIM para DMP ( $m/z$  - 163).

O ponto zero no eixo de tempo corresponde aproximadamente ao instante em que a fibra é exposta aos filamentos do espectrômetro de massas. Também são mostrados os registros do branco da solução e do background das fibras. Os perfis obtidos para os sinais do DEP e DPP são similares.

No monitoramento do background (C) das três fibras observa-se apenas uma linha de base limpa, indicando que não ocorre introdução de artefatos decorrente da degradação dos filmes sorventes expostos aos filamentos do espectrômetro de massas. Os picos correspondentes aos analitos (DMP, DEP e DPP) não aparecem imediatamente após a introdução das fibras no espectrômetro de massas: para PDMS / DVB eles aparecem em  $t \approx 7$  s e para Carbowax / DVB em  $t \approx 33$  s, e como um pico baixo e largo em 5 s para PDMS. Para todas as fibras, picos espúrios em tempos menores do que os dos sinais dos analitos aparecem em todas as amostras e os brancos: para PDMS, imediatamente após a exposição da fibra na câmara do espectrômetro de massas; para Carbowax / DVB, um pico largo até  $t \approx 20$  s; e para PDMS / DVB um grupo de picos mal resolvidos em até  $t \approx 3$  s. Estes picos espúrios foram atribuídos à água sorvida, ou mecanicamente retida nos poros do revestimento das fibras, além daquela presente como um filme molhando a superfície das fibras. Presume-se que, quando a fibra é inserida na câmara de ionização e aquecida sob o vácuo do espectrômetro de massas, inicialmente a água retida ou sorvida pelo revestimento é vaporizada. A inserção da fibra PMDS / DVB ou Carbowax / DVB saturada com água causa o aparecimento de sinal intenso em toda a faixa de  $m/z$  monitorada. Sinal similar não específico distribuído através de todo intervalo monitorado de  $m/z$  (ruído químico) pode ser observado em técnicas tais como a CE-MS (Eletroforese Capilar acoplada a MS), na qual grande quantidade de solventes ou outras substâncias estranhas são introduzidas na câmara de ionização.<sup>73</sup> Este fenômeno tem sido associado com a formação, ionização e detecção de *clusters* de solventes (neste caso, *clusters* de água). A corrente residual causada pelo impacto de

um grande número de moléculas neutras na multiplicadora de elétrons do espectrômetro de massas também pode levar a estes picos não específicos. Além da geração destes picos espúrios em modo SIM, a vaporização da água introduzida no sistema também pode causar uma perturbação transiente, mas significativa na pressão, reduzindo instantaneamente a eficiência de ionização eletrônica e a capacidade dos filamentos de aquecer a fibra. Deve-se considerar que dada a grande entalpia de vaporização da água ( $40,7 \text{ KJ mol}^{-1}$ )<sup>73</sup> o processo de vaporização é altamente endotérmico, o que contribui para o esfriamento da fibra. O aquecimento efetivo da fibra de SPME pelos filamentos de ionização do espectrômetro de massas só ocorrerá quando toda água sorvida ou retida for removida da fibra e o seu vapor removido da câmara de ionização pela bomba de vácuo. Somente neste instante, os analitos retidos na fibra, são dessorvidos. Este modelo é consistente com os padrões de sinal observado. Quanto à diferença entre as fibras, a de maior polaridade (Carbowax / DVB) tende a reter maior quantidade de água, e a dessorção dos analitos ocorre tardiamente, quando comparada a PDMS / DVB. Na fibra PDMS, o revestimento da fibra não é poroso e o PDMS não sorve grande quantidade de água devido a sua apolaridade; assim somente uma pequena quantidade de água é retida na área de superfície da fibra na amostra.

Considerando a magnitude reduzida do sinal em comparação aos outros revestimentos para extrações com a fibra PDMS, esta foi excluída dos experimentos seguintes. As Figuras 37 a e b apresentam os sinais obtidos para as fibras Carbowax / DVB e PDMS / DVB, respectivamente, para extrações das soluções testes de amostras contendo  $50 \mu\text{g L}^{-1}$  de cada analito.



**Figura 37:** Perfil do sinal obtido para 50  $\mu\text{g L}^{-1}$  de solução aquosa do DMP (SIM para os íons *m/z* - 163), DEP (*m/z* - 177) e DPP (*m/z* - 209) para as fibras a) Carbowax / DVB e b) PDMS / DVB de 65  $\mu\text{m}$ .

Como pode ser visto, a fibra PDMS / DVB apresenta grande eficiência de extração para as três espécies e melhor resolução do sinal analítico, quando comparada a Carbowax / DVB. Isto é consistente com as propriedades dos revestimentos das fibras: ambos são dispersões de um sólido adsorvente (divinilbenzeno), sobre fases poliméricas, o PDMS e o Carbowax, sendo a primeira menos polar e, portanto com maior afinidade pelos analitos.

A Tabela 9 mostra as medidas de repetibilidade das extrações.

**Tabela 11:** Repetibilidade (expressa como estimativa de desvio padrão relativo em percentagem) para determinação de ftalatos ( $50 \mu\text{g L}^{-1}$ ) por SPME-MS.

| Analitos                | Repetibilidade (n=6) |                    | *Repetibilidade (n=3) |                    |
|-------------------------|----------------------|--------------------|-----------------------|--------------------|
|                         | PDMS / DVB (%)       | Carbowax / DVB (%) | PDMS / DVB (%)        | Carbowax / DVB (%) |
| DMP<br><i>m/z</i> - 163 | 7,9                  | 10,4               | 4,0                   | 5,6                |
| DEP<br><i>m/z</i> - 177 | 8,3                  | 10,9               | 2,7                   | 4,5                |
| DPP<br><i>m/z</i> - 209 | 8,0                  | 10,2               | 3,5                   | 9,3                |

\*Repetibilidade obtida após três dias das medidas de n=6.

Os dados indicam que para ambas fibras a precisão pode ser considerada aceitável, com desvio padrão relativo de 7,9 % a 8,3% para PDMS / DVB e 10,2 % a 10,9 % para Carbowax / DVB. A repetibilidade entre dias também foi boa, sendo o desvio padrão relativo menor que 4,0 % para PDMS / DVB e 9,3 % para Carbowax / DVB.

A Tabela 12 apresenta os parâmetros das curvas analíticas obtidas para as fibras PDMS / DVB e Carbowax / DVB.

**Tabela 12:** Parâmetros das curvas analíticas obtidas para determinação de ftalatos por SPME-MS (n = 3).

|                    | Carbowax-DVB 65 $\mu\text{m}$ |               |               |
|--------------------|-------------------------------|---------------|---------------|
|                    | 163 - DMP                     | 177 - DEP     | 209 - DPP     |
| $a \times 10^{-3}$ | $14 \pm 2^a$                  | $13 \pm 1$    | $6,5 \pm 0,9$ |
| $b \times 10^{-3}$ | $133 \pm 39$                  | $109 \pm 19$  | $108 \pm 18$  |
| r                  | 0,958                         | 0,987         | 0,958         |
| LD                 | 0,1                           | 0,1           | 0,1           |
| LQ                 | 0,4                           | 0,3           | 0,3           |
|                    | PDMS-DVB 65 $\mu\text{m}$     |               |               |
|                    | 163 - DMP                     | 177 - DEP     | 209 - DPP     |
| $a \times 10^{-3}$ | $4,7 \pm 0,4^a$               | $4,4 \pm 0,3$ | $2,6 \pm 0,2$ |
| $b \times 10^{-3}$ | $-45 \pm 21$                  | $-47 \pm 16$  | $-32 \pm 10$  |
| r                  | 0,988                         | 0,992         | 0,990         |
| LD                 | 3,6                           | 3,6           | 5,1           |
| LQ                 | 12                            | 12            | 17            |

**Nota:** LD - limite de detecção ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ); LQ – limite de quantificação ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ); a - inclinação; b – intercepto e r - coeficiente correlação. Nota: a) Incerteza de a e b expressa como estimativas de desvio padrão relativo.

Observa-se que para a fibra Carbowax / DVB obteve-se melhor detectabilidade (LD de  $0,3 \mu\text{g L}^{-1}$  contra  $12 \mu\text{g L}^{-1}$ ) do que para a fibra PDMS / DVB. Entretanto os coeficientes de correlação foram melhores com a fibra PDMS / DVB desde 0,988 a 0,992, o que indica uma melhor confiabilidade. Nos resultados a sensibilidade expressa com inclinação das curvas analíticas para ambas as fibras aumenta na ordem de  $\text{DMP} > \text{DEP} > \text{DPP}$ . Assim adotou-se a fibra PDMS / DVB para as aplicações nas amostras.

### 3.5.2 Aplicação da metodologia em amostras.

A Tabela 13 apresenta os resultados para as quantidades dos ftalatos nas amostras.

**Tabela 13:** Concentrações C ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) dos ftalatos em águas minerais e recuperação R (%) das mesmas amostras dopadas com  $25 \mu\text{g L}^{-1}$  de cada analito.

| Marca A   |                   |    | Marca B           |    |
|-----------|-------------------|----|-------------------|----|
| Analitos  | C                 | R  | C                 | R  |
| DMP (163) | 16                | 74 | n.q. <sup>a</sup> | 82 |
| DEP (177) | 23                | 67 | 15                | 78 |
| DPP (209) | n.q. <sup>a</sup> | 85 | n.q. <sup>a</sup> | 93 |

Nota: a - espécies detectadas, mas abaixo do limite de quantificação.

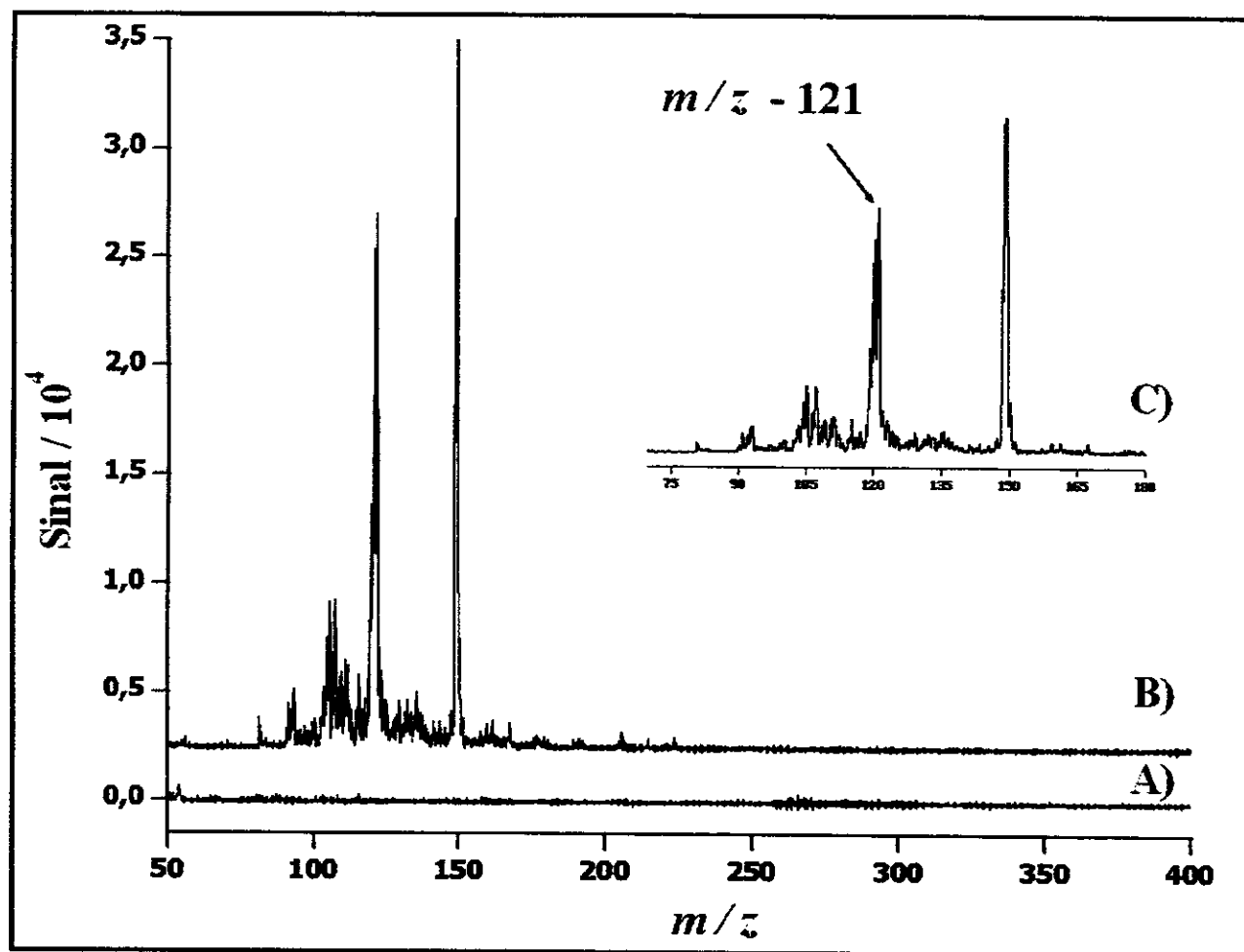
Foi possível a detecção das espécies em todas as amostras de água mineral, porém, apenas DMP e DEP na água mineral da marca A e DEP na marca B estavam

presentes em teores maiores que o LQ. O percentual de recuperação variou de 67 a 98 % para os analitos estudados, e foi considerado adequado.

Outros métodos obtendo-se menores LD e LQ, são descritos em literatura para determinação e quantificação de ftalatos em amostras de água, utilizando-se de SPME e GC com detector de massas<sup>21,22,75</sup> e captura e elétrons (ECD)<sup>23</sup>. São mostradas a avaliação de diferentes fibras na extração dos ftalatos com estudos de efeito de temperatura, tempo de extração e força iônica do meio. Todavia, os valores determinados aqui de LD (Tabela 12) mostram-se menores do que os limites regulamentados pelo EPA<sup>75</sup> de 6  $\mu\text{g L}^{-1}$  para o contaminante similar em água, o di(2-etilexil) ftalato (DEHP). Outra relevância para o método desenvolvido seria a de uma grande redução no tempo de análise de  $\sim 1$  min, uma vez que não há separação cromatográfica. Também é possível a determinação de ftalatos totais e de aumento em sensibilidade pelo monitoramento de um único íon em comum entre os ftalatos, sendo este o íon  $m/z$  - 149.

### 3.5.3 Extração de pesticidas em ervas infusas.

A Figura 38 mostra os espectros obtidos após varredura em modo full scan do sinal gerado pelo branco da fibra (A) PDMS / PVA e pela extração (B) por 20 min de uma aliquota de 5 mL do chá sem dopagem.

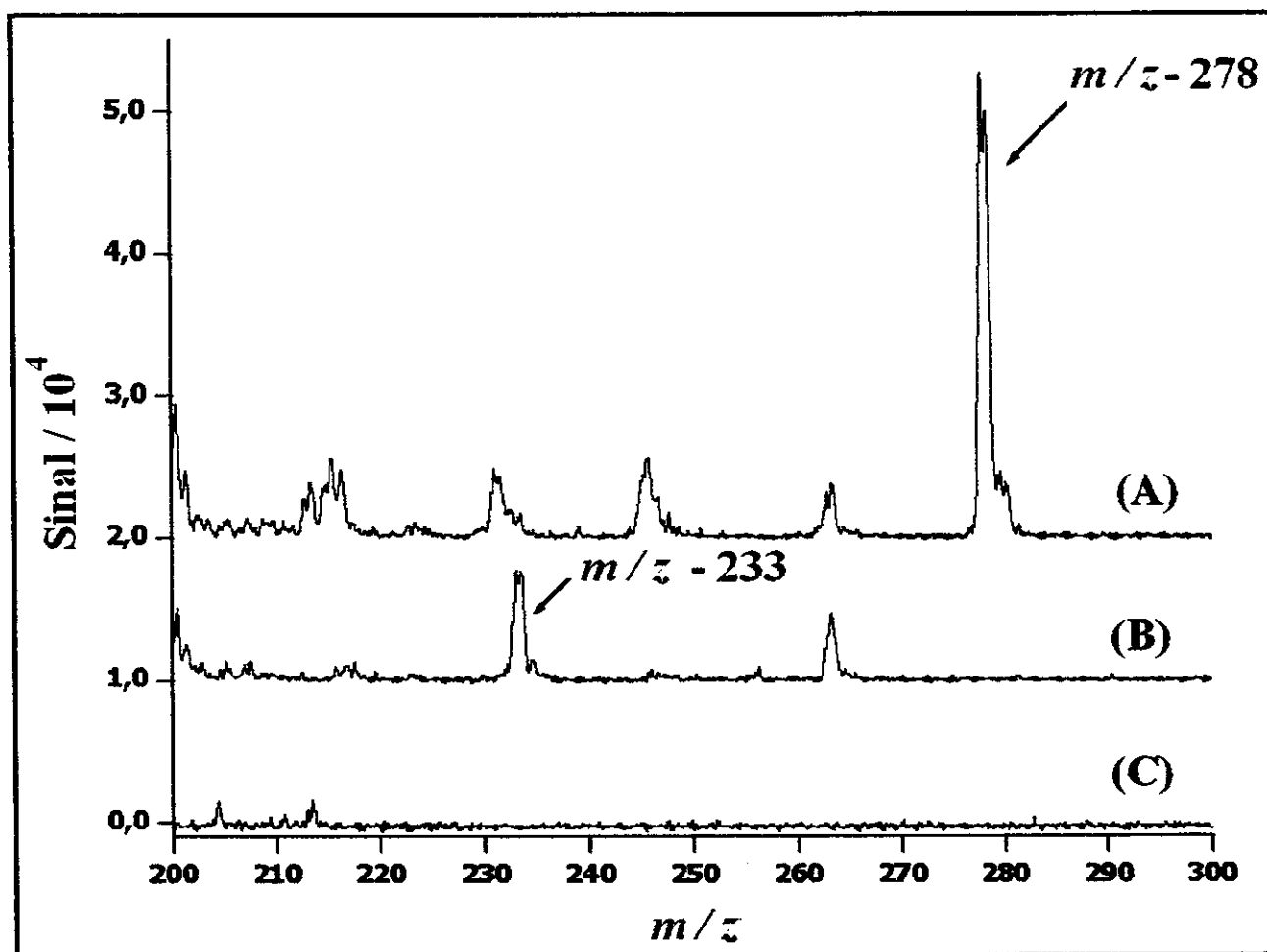


**Figura 38:** Espectro obtido no modo full scan ( $m/z$  - 50 a 400): A) após a limpeza da fibra no injetor do GC; B) branco do chá; C) detalhe do branco do chá, mostrando o íon  $m/z$  - 121.

Observa-se que para o branco da fibra obtido logo após a limpeza no injetor, não há sinal visível que poderia ser atribuído a analitos remanescentes na fibra ou de degradação do recobrimento.

Para o branco do chá, a maior concentração de fragmentos gerados ficou entre  $m/z$  100 e 150, com fragmentos de maior intensidade para  $m/z$  - 121 e 149. Para os pesticidas monitorados, selecionaram-se fragmentos com  $m/z$  maior que 150 para que não houvesse interferência.

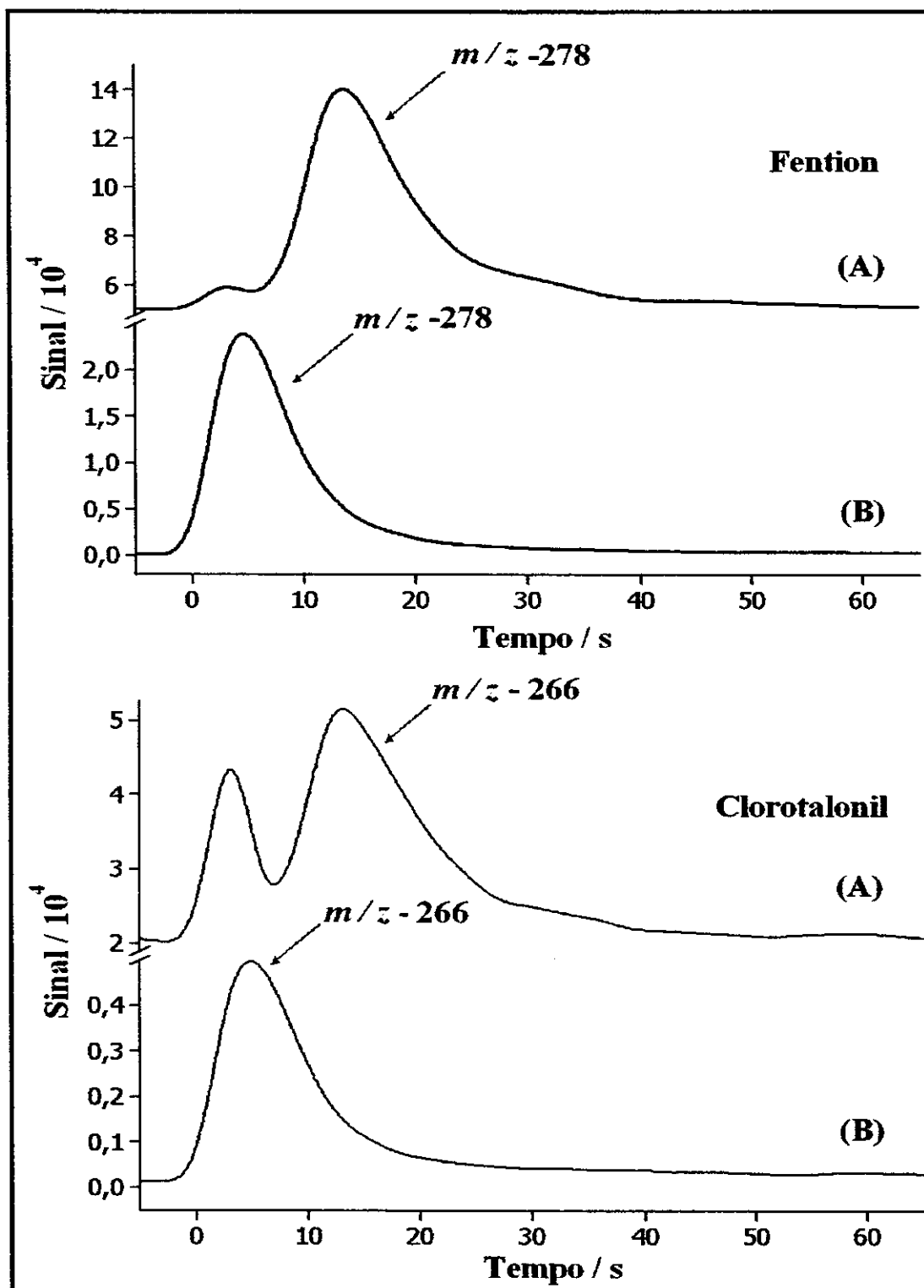
Na Figura 39 são mostrados detalhes específicos gerados em full scan para amostras de chá dopadas com os pesticidas metilparation e fention e os íons selecionados para monitoramento.



**Figura 39:** Espectro de massas (70-eV EI, modo scan, faixa de  $m/z$  50-400) de amostra de *P. edulis* dopadas com 100 ng mL<sup>-1</sup>. (A) fention ( $m/z$  - 278), (B) metilparation ( $m/z$  - 233). (C) branco da fibra de PDMS / PVA.

### **3.5.4 SIM de amostras do chá dopada com os pesticidas.**

Na Figura 40 é mostrado o registro de sinal em modo SIM para chá dopado com fention ( $m/z$  - 278) e clorotalonil ( $m/z$  - 266), usando fibras PDMS / PVA e PDMS / DVB para comparação.



**Figura 40:** Perfil do sinal de FIMS da amostra de *P. edulis* dopados com 100 ng L<sup>-1</sup> de clorotalonil ( $m/z - 266$ ) e fention ( $m/z - 278$ ) usando as fibras de (A) PDMS / DVB e (B) PDMS / PVA.

O tempo desde a introdução da fibra ( $t = 0$ ) no espectrômetro até a exposição da fibra entre os filamentos na câmara de ionização para dessorção dos pesticidas foi limitado a 60 s, para evitar possível degradação dos revestimentos.

Observa-se que para a fibra comercial de PDMS / DVB, a dessorção total e detecção dos pesticidas são mais lentas (demorando de 30 s e 40 s), enquanto que para a fibra PDMS / PVA esse tempo foi apenas de 15 s a 20 s. Esta diferença deve-se à menor espessura do filme da fibra PDMS / PVA e sua menor retenção de água. Filmes finos como a da fibra PDMS / PVA são aquecidos quase imediatamente pelos filamentos do espectrômetro de massas. O mesmo não ocorre com a fibra PDMS / DVB, na qual a espessura do filme é maior. Além disso, nesta fibra ocorre a geração de sinal indesejado causado pela sorção de vapor de água, neste caso atribuído a “ruído químico” ao equipamento. Para a fibra PDMS / PVA devido à baixa polaridade e pequena espessura ( $\cong 5 \mu\text{m}$ ), a sorção de água é reduzida não aparecendo os sinais indesejados e obtendo-se apenas o sinal limpo da detecção dos pesticidas. Perfis de sinais semelhantes para os outros pesticidas gerados em SIM são obtidos. A magnitude do sinal de picos espúrios da água neste caso foi menor que a das análises anteriores de ftalatos, pelo fato de que as extrações foram feitas no modo HS, sem contato da fibra com a solução salina do chá.

A Tabela 14 apresenta os parâmetros das curvas analíticas obtidas para o método multiresíduo com a fibra PDMS / PVA.

**Tabela 14:** Inclinação  $a$ , intercepto  $b$ , coeficiente de correlação  $r$  para a curva analítica obtida para o método multiresíduo, limite de detecção (LD) e de quantificação (LQ) em  $\mu\text{g L}^{-1}$ , recuperação (R) em % e estimativa do desvio padrão relativo (RSD) para pesticidas organoclorados e organofosforados em infusões de *P. edulis* usando método otimizado para HS-SPME-MS e fibra PDMS / PVA ( $n = 3$ ).

| Analito | a            | b / $10^{-3}$   | r     | LD  | LQ | R <sup>a</sup> | R <sup>b</sup> | RSD |
|---------|--------------|-----------------|-------|-----|----|----------------|----------------|-----|
| MA      | $23 \pm 1$   | $1,24 \pm 0,09$ | 0,994 | 3,9 | 13 | -              | 104            | 3,6 |
| AE      | $189 \pm 6$  | $1,2 \pm 0,5$   | 0,998 | 0,9 | 3  | 80             | 105            | 5,3 |
| MP      | $90 \pm 3$   | $0,1 \pm 0,2$   | 0,998 | 0,9 | 3  | 110            | 103            | 6,1 |
| CT      | $27 \pm 2$   | $0,3 \pm 0,1$   | 0,991 | 2,8 | 9  | 85             | 88             | 4,7 |
| FT      | $546 \pm 14$ | $1 \pm 1$       | 0,999 | 0,3 | 1  | 91             | 96             | 4,4 |

<sup>a</sup>Amostra dopada com  $20 \mu\text{g L}^{-1}$  de cada pesticida.

<sup>b</sup>Amostra dopada com  $100 \mu\text{g L}^{-1}$  de cada pesticida.

MA: malation; AE:  $\alpha$ -endosulfan; MP: metilparation; CT: clorotalonil e FT: fention.

A sensibilidade dos pesticidas para as curvas analíticas aumenta na sequência malation < clorotalonil < metilparation <  $\alpha$ -endosulfan < fention. Boa correlação foi obtida para as curvas (0,979 a 0,997) considerando-se a possibilidade do monitoramento de até cinco íons ao mesmo tempo sem a necessidade de separação cromatográfica. Os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) foram calculados pela razão sinal/ruído de 3 e 10 obtendo-se valores no intervalo de 0,3 a  $3,9 \mu\text{g L}^{-1}$  e de 1 a  $13 \mu\text{g L}^{-1}$  respectivamente.

Na Tabela 15 estão os valores obtidos para o método mono resíduo com detecção para  $\alpha$ -endosulfan e metilparation em modo SIM.

**Tabela 15:** Inclinação  $a$ , intercepto  $b$ , coeficiente de correlação  $r$  para as curvas analíticas obtidas para o método monoresíduo para  $\alpha$ -endosulfan e metilparation, limite de detecção (LD) e quantificação (LQ) em  $\mu\text{g L}^{-1}$ , recuperação (R) em % e estimativa do desvio padrão relativo (RSD) para pesticidas organoclorados e organofosforados em infusão de *P. edulis* usando método otimizado para HS-SPME-MS com a fibra PDMS / PVA ( $n=3$ ).

| Analito | Íon - $m/z$ | $a$           | $b / 10^{-3}$     | $r$   | LD | LQ | $R^a$ | $R^b$ | RSD |
|---------|-------------|---------------|-------------------|-------|----|----|-------|-------|-----|
| AE      | 195         | $35 \pm 2$    | $0,2 \pm 0,1$     | 0,997 | 6  | 19 | 108   | 91    | 8,5 |
|         | 241         | $18 \pm 0,4$  | $0,06 \pm 0,03$   | 0,999 | 4  | 13 | 87    | 88    | 6,7 |
|         | 277         | $6 \pm 1$     | $0,10 \pm 0,05$   | 0,986 | 7  | 22 | 128   | 96    | 6,7 |
|         | 339         | $3,4 \pm 0,4$ | $0,05 \pm 0,03$   | 0,985 | 10 | 32 | 113   | 128   | 6,4 |
| MP      | 155         | $19 \pm 6$    | $1,1 \pm 0,4$     | 0,892 | 1  | 4  | -     | 101   | 8,0 |
|         | 200         | $89 \pm 18$   | $3 \pm 1$         | 0,944 | 1  | 4  | -     | 152   | 8,3 |
|         | 233         | $8 \pm 1$     | $0,2 \pm 0,1$     | 0,956 | 4  | 13 | -     | 149   | 4,3 |
|         | 263         | $14 \pm 1$    | $0,081 \pm 0,001$ | 0,993 | 7  | 23 | 100   | 129   | 3,6 |

<sup>a</sup>Amostra dopada com  $20 \mu\text{g L}^{-1}$  de  $\alpha$ -endosulfan e metilparation.

<sup>b</sup>Amostra dopada com  $100 \mu\text{g L}^{-1}$  de  $\alpha$ -endosulfan e metilparation.

AE:  $\alpha$ -endosulfan e MP: metilparation.

A intensidade do sinal para o íon molecular  $m/z$  - 121 respectivo a fração de voláteis do chá permaneceu constante durante as extrações para construção das curvas analíticas. Os LD e LQ para o método monoresíduo não foram melhores para os pesticidas  $\alpha$ -endosulfan e metilparation quando comparados ao método de multiresíduo. Verifica-se que para o monitoramento dos quatro íons dos pesticidas as

correlações foram entre 0,892 a 0,999 com LD de 1 a 10  $\mu\text{g L}^{-1}$  e LQ de 4 a 32  $\mu\text{g L}^{-1}$ , possibilitando a escolha dos melhores resultados para análise. Melhor recuperação foi obtida para o método multiresíduo compreendida desde 80 a 110 % com estimativa de desvios padrão relativos de 3,6 a 6,1 %. Para o método monoresíduo a recuperação foi de 87 % a 152 % com estimativas de desvios padrão relativos de 3,6 % a 8,5 %.

Para o método de multiresíduo, com o monitoramento do íon de maior intensidade verifica-se que há um aumento em sensibilidade entre os pesticidas estudados. Porém, no método monoresíduo o monitoramento de quatro íons de um único pesticida, resultou em menor sensibilidade e aumento em seletividade.

Ho et al.,<sup>77</sup> utilizou-se da SPME na extração de pesticidas organoclorados associado a extração assistida por microondas (MAE). O tempo de extração, tempo de dessorção, e temperaturas foram estudadas. O método mostra uma desvantagem em relação ao tempo de extração atribuído de 90 min com análise seguida por GC – ECD. Embora os pesticidas não serem os mesmos aqui estudados, o método apresenta bons LD (0,05 a 0,11  $\mu\text{g kg}^{-1}$ ).

Zuin et al.,<sup>78</sup> trabalhando com plantas medicinais brasileira na determinação de pesticidas, utiliza-se para extração a SFE com diferentes pressões de  $\text{CO}_2$  a temperatura constante (40 °C), com análise subsequente por GC - ECD/FPD. O método apresentou boa linearidade e bons LD, sendo estes de mesma ordem de grandeza ou superiores (1 a 10  $\mu\text{g L}^{-1}$ ) em relação aos mesmos pesticidas aqui estudados no método de multiresíduo.

Em outro trabalho com plantas medicinais e utilizando-se também de uma fibra de PDMS / PVA de 65  $\mu\text{m}$ , Zuin et al.,<sup>79</sup> desenvolveram um método de extração para os mesmos pesticidas aqui estudados (exceto fention), em folhas de *P. edulis*, *P. alata* e *P. incarnata* com seguida análise por GC – ECD. Um maior tempo

de exposição da fibra ao HS (38 min), foi submetida para extração dos pesticidas. Embora a faixa linear de concentração para cada pesticida estudado não serem de mesma concentração para o método multiresíduo de Zuin, os LD e LQ foram de mesma ordem de grandeza, com maiores sensibilidade e melhores coeficientes de correlação quando comparados entre si cada um dos pesticidas.

## **CAPÍTULO IV**

### ***CONCLUSÕES***

## 4.1 CONCLUSÕES.

Os resultados apresentados nesta tese mostram novos avanços relacionados à Microextração em Fase Sólida.

Os sistemas de DHS-SPME desenvolvidos podem ser aplicados à amostras sólidas, líquidas ou mesmo viscosas na extração de compostos voláteis e semivoláteis de interesse. Três formas básicas, diferentes quanto à propulsão do gás de *stripping* podem ser aplicadas: uso de um gás inerte (N<sub>2</sub>) de cilindro com rotâmetro e válvula manual interruptora de gás; ar ambiente propulsionado por bomba peristáltica; e ar impelido de bomba para aquários, sendo que estas duas são portabilizáveis para trabalhos intralaboratoriais ou para amostragem de campo. Foi observado que tanto o tempo de extração quanto a vazão do gás de *stripping* aplicado à amostra têm que ser otimizados para máxima transferência dos analitos à fibra, resultando em maior eficiência na extração. Tempos excessivos de aplicação do gás pode ocasionar a própria dessorção dos analitos da fibra, uma vez que com o passar do tempo a concentração de analito da amostra/*headspace* diminui, ocasionando assim diminuição da concentração de analito no gás. Entretanto, alguns tipos de amostras como, por exemplo, as folhas secas de hortelã, tempos excessivos de extração pode favorecer um aumento na eficiência de extração de compostos mais pesados.

Em comparação ao método convencional de extração de HS-SPME, dependendo do tipo de amostra, o sistema de DHS-SPME pode apresentar vantagens como: redução substancial do tempo de extração, maior sensibilidade e precisão, fácil manuseio, reduzido consumo de amostra e baixo custo.

No acoplamento direto entre as técnicas de SPME e a MS, a aplicação de novas fibras comerciais foi avaliada, uma vez que no primeiro trabalho de

apresentação da técnica somente a fibra de 100  $\mu\text{m}$  de PDMS foi utilizada. Três fibras comerciais de SPME sendo estas a de 100  $\mu\text{m}$  de PDMS, 65  $\mu\text{m}$  de PDMS / DVB e a de 65  $\mu\text{m}$  de Carbowax / DVB, foram utilizadas no desenvolvimento de uma metodologia para extração e quantificação de três ésteres de ácido ftálico em amostras de água mineral. Verifica-se que diferentes perfis de sinal analítico dentre as fibras foram obtidos na extração dos ésteres de ácido ftálico. Entretanto pode-se obter bons resultados quanto na metodologia desenvolvida podendo esta ser aplicada na quantificação dos ftalatos em amostras de água uma vez que o limite máximo permitido pelo EPA seria de 6  $\mu\text{g L}^{-1}$ .

A fibra de PDMS / PVA avaliada na técnica de FIMS na extração de pesticidas dopados em folhas de maracujá (*P. edulis*), apresentou melhor resolução de sinal analítico quando comparada à fibra de PDMS / DVB de 65  $\mu\text{m}$ . Isto se deve à menor espessura do filme e de seu caráter hidrofóbico. Bons LD e LQ foram obtidos quando comparados a outros métodos descritos em literatura com redução substancial no tempo de análise.

Em FIMS, o estudo de métodos multiresíduos pode ser realizado através do monitoramento de um íon selecionado para os diversos analitos de interesse, ou o estudo de métodos monoresíduos por monitoramento de íons selecionados para os fragmentos iônicos gerados de um único analito de interesse.

A técnica de FIMS mostrada com a aplicação de diferentes fibras e diversos analitos de interesse apresentou uma alta sensibilidade, boa reprodutibilidade, precisão e menor tempo de análise para as metodologias desenvolvidas uma vez que não há separação cromatográfica.

Assim, consideramos que os estudos aqui mostrados de DHS-SPME e de FIMS são de grande valia para avanços na técnica de Microextração em Fase Sólida.

## APENDICE A

Estruturas dos compostos utilizados na caracterização do sistema de DHS-SPME.

1) **Clorobenzeno**.  $C_6H_5Cl$ , massa molar 112.



Nome da IUPAC: Monoclorobenzeno

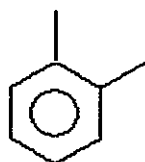
Número de registro (CAS): [108-90-7], NIST [1680],

Uso: manufatura de fenol; anilina; solvente para tintas.

Propriedades: líquido incolor; muito reativo; odor fraco, não desagradável.  $D_4^{20}$  1.107; ponto de ebulição 131-132. Sólido a  $-55^\circ\text{C}$ , fusão a  $-45^\circ\text{C}$ . Insolúvel em água, solúvel em álcool, benzeno, clorofórmio e éter.

Toxicidade: pode ser irritante aos olhos, sistema respiratório e pele;  $LD_{50}$  oral em ratos de  $1110\text{ mg kg}^{-1}$ .

2) *o*-xileno.  $C_8H_{10}$ , massa molar 106.



Nome da IUPAC: 1,2-dimetil benzeno,

Número de registro (CAS): [95-47-6], NIST [150812],

Uso: como solvente; para produção de ácido benzóico; anidrido ftálico; isoftálico e ácidos tereftálico bem com seus ácidos ésteres dimetil usado na manufatura de fibras de poliésteres.

Propriedades: líquido incolor;  $d_4^{20}$  0.8801; ponto de fusão  $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ ; ponto de ebulição  $144\text{ }^{\circ}\text{C}$ ; insolúvel em água, miscível em álcool e éter.

Toxicologia: pode ser narcótico em altas concentrações; toxicidade crônica não bem definida, mas menos tóxico que benzeno.  $LD_{50}$  oral em ratos de  $4300\text{ mg kg}^{-1}$ .

3) **Decano.**  $C_{10}H_{22}$ , massa molar 142.



Nome da IUPAC: *n* – decano

Número de registro (CAS): [124-18-5], NIST [3837],

Propriedades: estável e incompatível com agentes oxidantes; ponto de fusão  $-29,7\text{ }^{\circ}\text{C}$ , ponto de ebulição  $174,1\text{ }^{\circ}\text{C}$ , densidade  $d_4^{20}$  0,7300. solúvel em álcool e éter.

Toxicologia: carcinogênico para humanos, irritantes para olhos, pele e sistema respiratório.  $LD_{50}$  oral em ratos  $5000\text{ mg kg}^{-1}$ .

**4) Tolueno.**  $C_7H_8$ , massa molar 92.



Nome da IUPAC: Metilbenzeno.

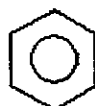
Número de registro (CAS): [108-88-3], NIST [61211],

Uso: em manufaturas de ácido benzóico; benzaldeídos; explosivos; e muitos outros solventes orgânicos tais como tintas; resinas; na extração de princípios de plantas; e aditivos em gasolina.

Propriedades: líquido inflamável; refrativo;  $d_4^{20}$  0,866; ponto de fusão  $-95\text{ }^\circ\text{C}$ ; ponto de ebulição  $110,6\text{ }^\circ\text{C}$ ; solúvel em água a  $23,5\text{ }^\circ\text{C}$  (w/w): 0,067 %; miscível em álcool; clorofórmio; éter; acetona; ácido acético glacial; disulfeto de carbono.

Toxicologia:  $LD_{50}$  oral em ratos:  $7,53\text{ g kg}^{-1}$ .

**5) Benzeno.**  $C_6H_6$ , massa molar 78.



Nome da IUPAC: benzeno,

Número de registro (CAS): [71-43-2], NIST [114388],

Uso: manufatura de substâncias medicinais, outros solventes orgânicos, como solvente orgânico em graxas; resinas; óleos; etc.

Propriedades: claro; incolor; altamente inflamável; odor característico;  $d_4^{20}$ ; 0,8787; ponto de ebulição 80,1 °C; ponto de fusão + 5,5 °C. Solúvel em água a 23,5 °C (w/w); 0,188 %. Miscível com álcool, clorofórmio, éter, tetracloreto de carbono, ácido acético glacial, acetona, óleos.

Toxicologia: LD<sub>50</sub> oral em ratos adultos: 930 mg kg<sup>-1</sup>.

6) **Etilbenzeno.**  $C_8H_{10}$ , massa molar 106.



Nome da IUPAC: etilbenzeno,

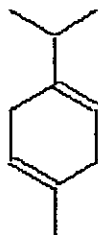
Número de registro (CAS): [100-41-4], NIST [114918],

Uso: para conversão de monômero de estireno; como solvente de resina.

Propriedades: líquido incolor; inflamável;  $d_{25}^{25}$  0.866; ponto de ebulição de 135,25 °C; ponto de fusão de -95,01 °C; praticamente insolúvel em água, miscível usualmente com solventes orgânicos.

Toxicologia: LD<sub>50</sub> oral em ratos: 5,46 g kg<sup>-1</sup>.

7) *γ-terpineno*. C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>, massa molar 136.



Nome da IUPAC: 1-metil-4-(1-metiletil)-1,4-ciclohexadieno,

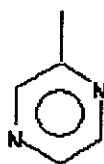
Número de registro (CAS): [99-85-4], NIST [34195],

Propriedades: óleo com ponto de ebulição a 183 °C, d<sub>4</sub><sup>15</sup> 0,853. Praticamente insolúvel em água, e miscível com álcool e éter.

Toxicidade: LD<sub>50</sub> oral em ratos de 1680 mg kg<sup>-1</sup>.

Estruturas das pirazinas utilizadas na dopagem do *líquor* de cacau para extração.

1) **2-metilpirazina**.  $C_5H_6N_2$ , massa molar 94.



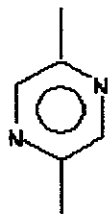
Nome da IUPAC: metilpirazina

Número de registro (CAS): [109-08-0], NIST [34507].

Propriedades: líquido de aparência clara, ponto de fusão de 29 a 36 °C ponto de ebulição entre 136 e 137 °C;  $d_4^{20}$  1,5042. Pouco solúvel em água, solúvel em álcool, éter, acetona e benzeno.

Toxicidade:  $LD_{50}$  dose oral em ratos de 1800 mg  $kg^{-1}$ .

2) **2,5-dimetilpirazina**.  $C_6H_8N_2$ , massa molar 108.



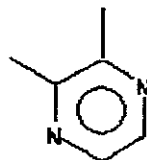
Nome da IUPAC: 2,5-dimetilpirazina,

Número de registro (CAS): [123-32-0], NIST [249248].

Propriedades: ponto de fusão 15 °C, ponto de ebulição 155 °C,  $d_4^{20}$  14980, pouco solúvel em água; solúvel em álcool, éter, acetona e benzeno.

Toxicidade: LD<sub>50</sub> oral em ratos de 880 mg kg<sup>-1</sup>.

3) **2,3-dimetilpirazina**.  $C_6H_8N_2$ , massa molar 108.



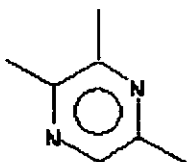
Nome da IUPAC: 2,3-dimetilpirazina,

Número de registro (CAS): [5910-89-4], NIST [118520].

Propriedades: aparência de coloração amarela em estado líquida, ponto de fusão 11 – 13 °C, ponto de ebulição 156 °C,  $d_4^{20}$  1,0281, solúvel em álcool, éter, água, álcool e metanol.

Toxicidade: LD<sub>50</sub> não avaliada.

4) **2,3,5-trimetilpirazina**.  $C_7H_{10}N_2$ , massa molar 122.



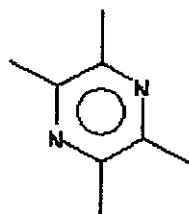
Nome da IUPAC: trimetilpirazina,

Número de registro (CAS): [14667-55-1], NIST [118738].

Propriedades: líquido claro e amarelado; ponto de fusão 54 °C, ponto de ebulição 171-172 °C,  $d_4^{20}$  0,97; solúvel em água, álcool, éter e metanol.

Toxicidade: LD<sub>50</sub> oral em ratos de 806 mg kg<sup>-1</sup>.

5) **Tetrametilpirazina.**  $C_8H_{12}N_2$ , massa molar 136.



Nome da IUPAC: tetrametilpirazina,

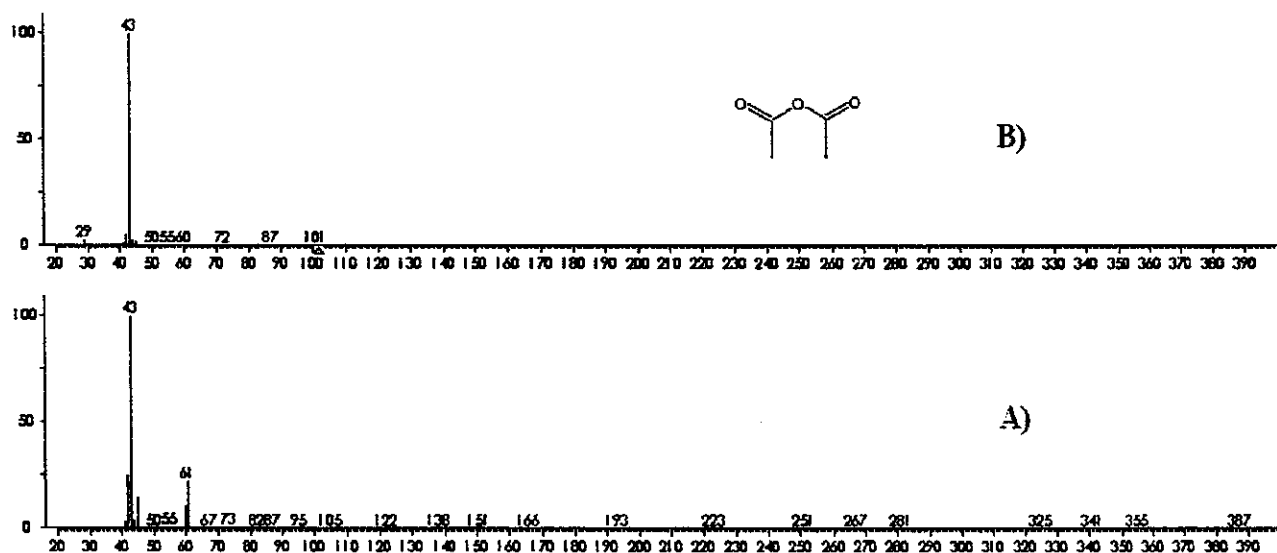
Número de registro (CAS): [1124-11], NIST [231868].

Propriedades: aparência de cristais brancos ou pó, ponto de fusão de 85 °C, ponto de ebulição de 190 °C,  $d_4^{20}$  0,9647, solúvel em água, éter, álcool e metanol.

Toxicologia: LD<sub>50</sub> oral de 1910 mg kg<sup>-1</sup>.

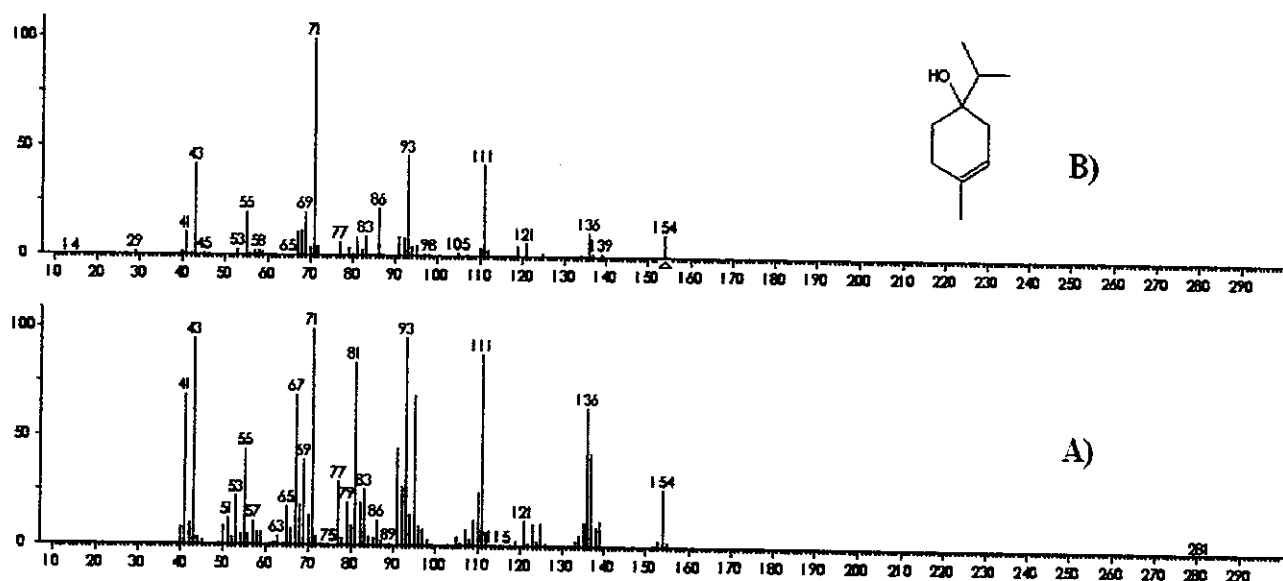
Comparação dos espectros de massas obtidos dos compostos extraídos de folhas secas de hortelã aos espectros de massas obtidos da biblioteca do GC 2100/ITMS Saturn (Varian) acima de 80 % de confiança.

1) *Ácido acético.*

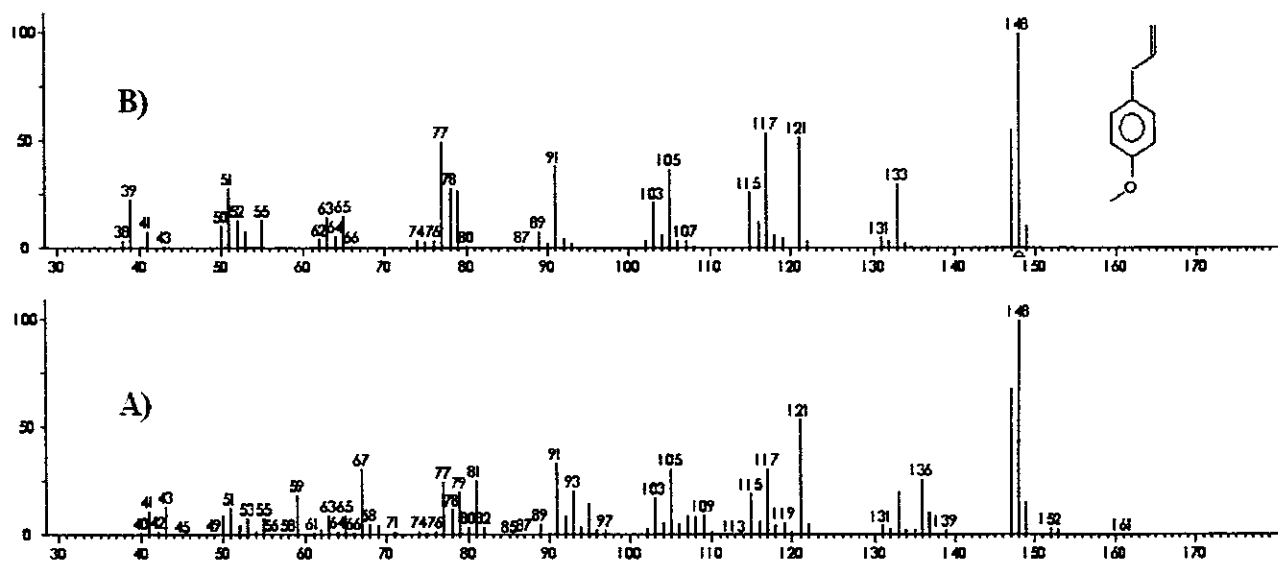


A) Espectro de massas de composto emitido por folhas secas de hortelã extraído por HS-SPME 40 min comparado ao espectro de massas do B) ácido acético obtido por GC 2100/ITMS Saturn (Varian).

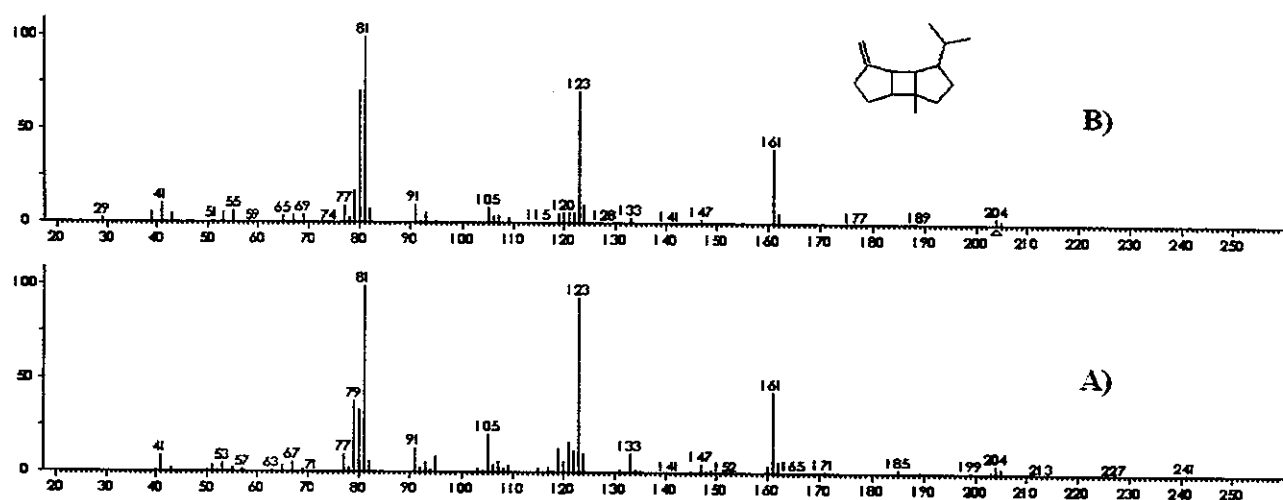
## 2) 4 – terpineol.



A) Espectro de massas de composto emitido por folhas secas de hortelã extraído por HS-SPME 40 min comparado ao espectro de massas de B) 4 - terpineol obtido por GC 2100/ITMS Saturn (Varian).

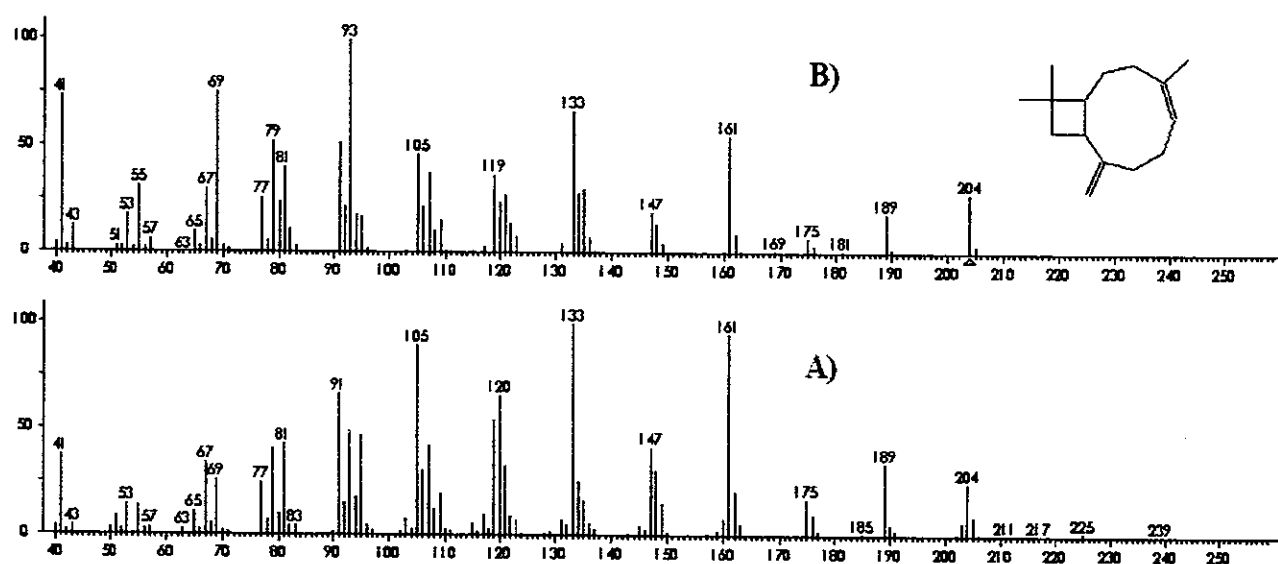
3) *p* - alilanol.

A) Espectro de massas de composto emitido por folhas secas de hortelã extraído por HS-SPME 40 min comparado ao espectro de massas do B) *p* - alilanol obtido por GC 2100/ITMS Saturn (Varian).

4)  $\beta$ -bourboneno.

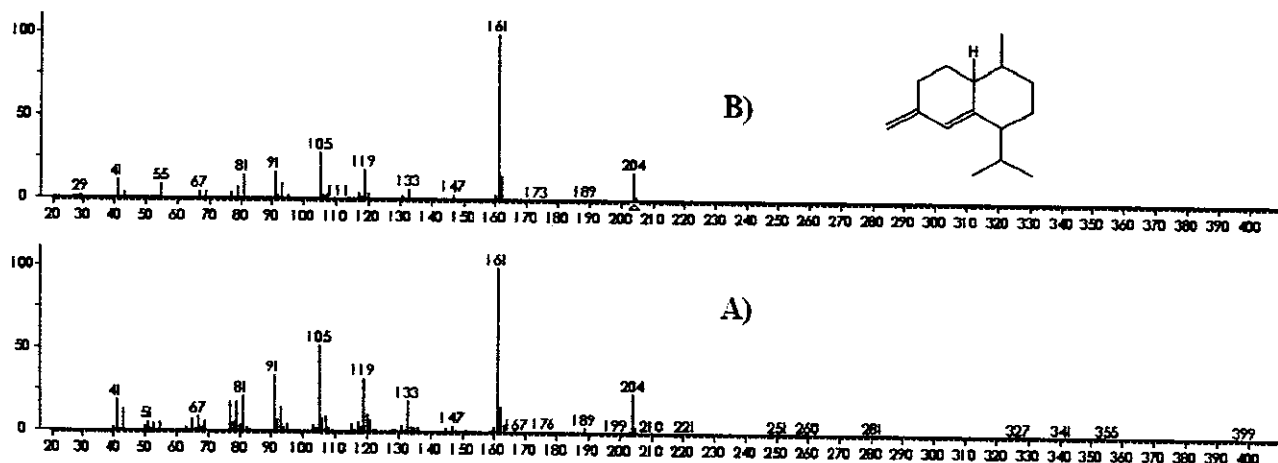
A) Espectro de massas de composto emitido por folhas secas de hortelã extraído por HS-SPME 40 min comparado ao espectro de massas do B)  $\beta$ -bourboneno obtido por GC 2100/ITMS Saturn (Varian).

### 5) *Cariofileno.*



A) Espectro de massas de composto emitido por folhas secas de hortelã extraído por HS-SPME 40 min comparado ao espectro de massas do B) cariofileno obtido por GC 2100/ITMS Saturn (Varian).

6) *Epibiciclosesquifelandreno.*

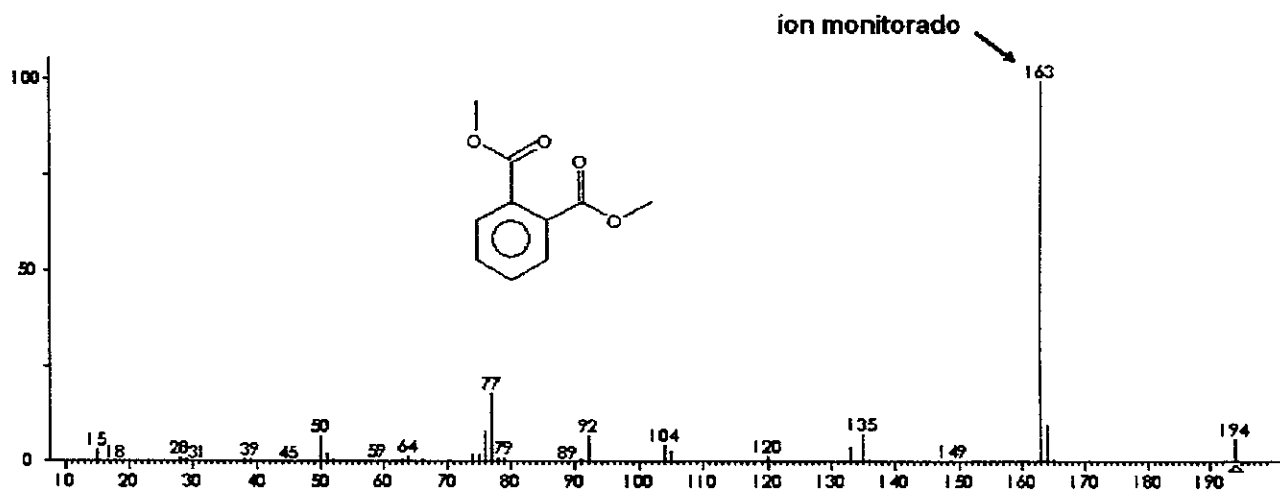


A) Espectro de massas de composto emitido por folhas secas de hortelã extraído por HS-SPME 40 min comparado ao espectro de massas do B) epibiciclosesquifelandreno obtido por GC 2100/ITMS Saturn (Varian).

## APENDICE B

Estruturas e espectros de massas dos ésteres ftálicos estudados por SPME acoplado a Espectrometria de Massas.

1) **Dimetilftalato.**  $C_{10}H_{10}O_4$ , massa molar 194.



Nome da IUPAC: ácido 1,2-benzenodicarboxílico dimetil éster,

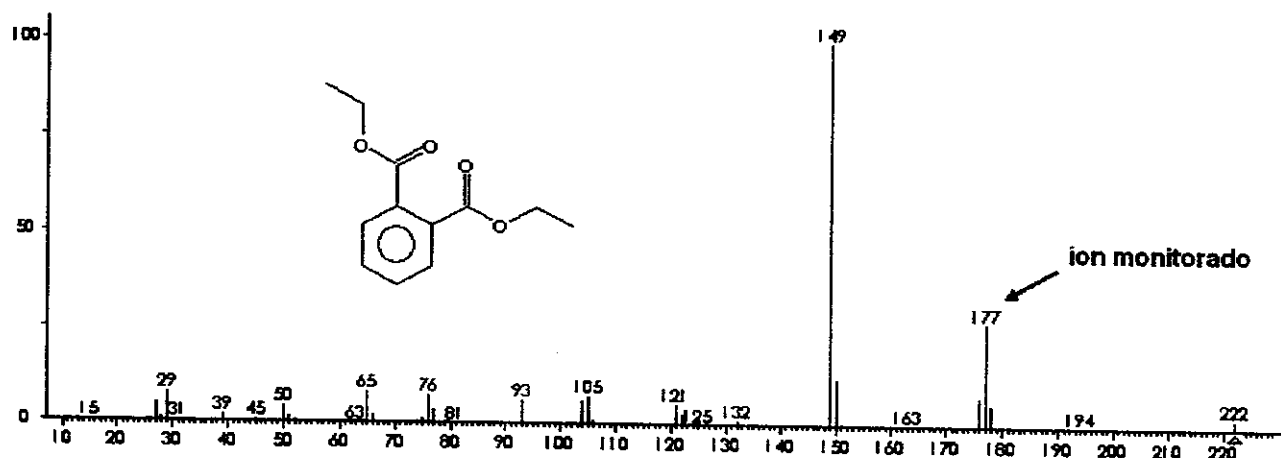
Número de registro (CAS): [131-11-3], NIST [227680].

Uso: como solvente e plastificante.

Propriedades: óleo líquido, praticamente insolúvel em água, (0,43 g / 100 mL), éter de petróleo, e outro hidrocarboneto parafínico. Sólido em óleo mineral: 20 °: 0,34 g 100 g.

Toxicologia: LD<sub>50</sub> em camundongo e ratos (mL / kg) 7,2, 6,9 oralmente.

2) **Dietilftalato.**  $C_{12}H_{14}O_4$ , massa molar 222.



Nome da IUPAC: dietilftalato.

Número de registro (CAS): [84-66-2], NIST [227685].

Uso: como solvente e plastificante, como manufatura em celulóides, solvente para acetato de celulose em manufatura de vernizes, fixador para perfumes.

Propriedades: óleo líquido insolúvel em água, miscível com éter de petróleo, álcool e alguns outros solventes orgânicos. Ponto de ebulição em 295 °C,  $d_4^{20}$  1,1175.

Toxicologia:  $LD_{50}$  em ratos de 5,06 mL / kg.

3) **Dipropilftalato**.  $C_{14}H_{18}O_4$ , massa molar 250.



Nome da IUPAC: dipropil éster ácido 1,2-benzenodicarboxílico,

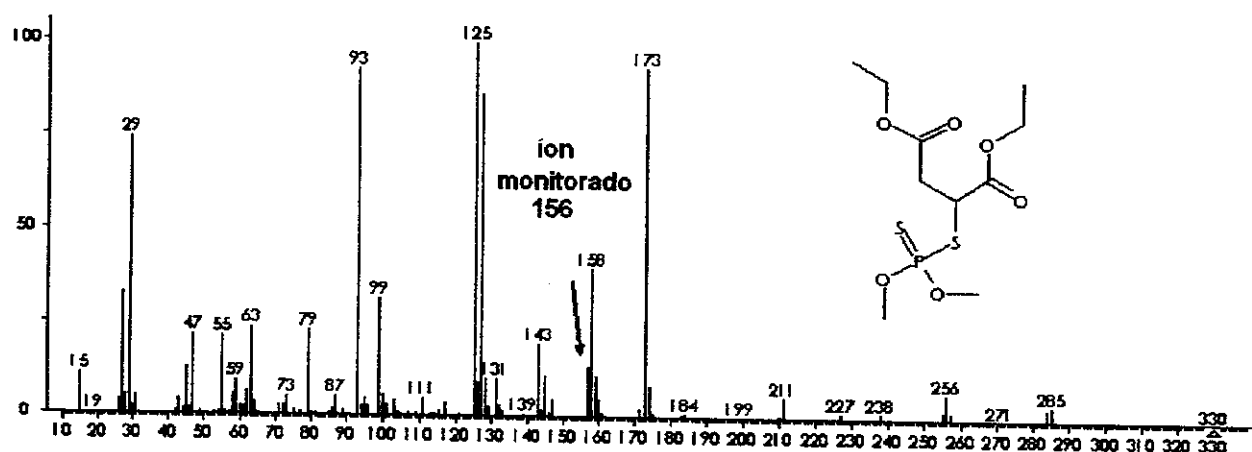
Número de registro (CAS): [131-16-8], NIST [135218].

Uso: como solvente e plastificante.

Propriedades: insolúvel em água, solúvel em álcool e éter. Ponto de ebulição 304 a 305 °C.

Estruturas e espectros de massas dos pesticidas estudados por SPME acoplado a Espectrometria de Massas.

1) **Malation.**  $C_{10}H_{19}O_6PS_2$ , massa molar 330.



Nome da IUPAC: Dietil(dimetoxitiofosforiltio) succinato;

Número de registro (CAS): [121-75-5], NIST [118987];

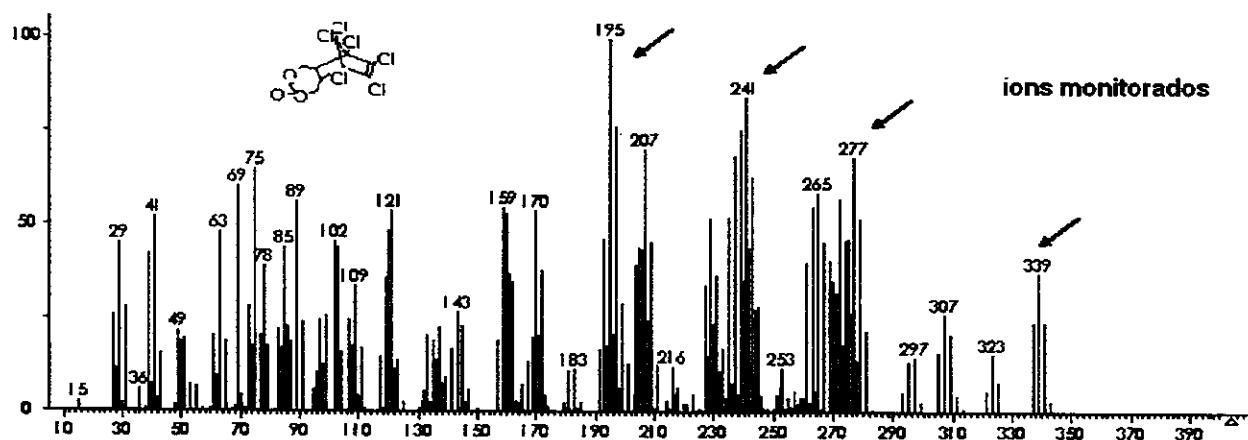
Usado como inseticida e acaricida não sistêmico;

Toxicologia:  $LD_{50}$  (oral aguda) em ratos:  $2.800 \text{ mg kg}^{-1}$ . ADI:  $0,02 \text{ mg kg}^{-1}$ ;

Propriedades: líquido amarelado; p.f.  $2,85^\circ\text{C}$ ; p.e.  $157 - 158^\circ\text{C}$  ( $0,7 \text{ mmHg}$ ); p.v.  $5,3 \text{ mPa}$  ( $30^\circ\text{C}$ );  $\log K_{ow}$  2,7. Solubilidade em água  $145 \text{ mg L}^{-1}$  ( $25^\circ\text{C}$ ); solúvel em partes dos solventes orgânicos. Relativamente estável em meio aquoso (pH 7).

Decomposição por ácidos e bases.

2)  **$\alpha$ -endosulfan.**  $C_9H_6Cl_6O_3S$ , massa molar 404.



Nome da IUPAC: 6, 7, 8, 10, 10-hexacloro-1, 5, 5a, 6, 9 ,9a-hexahidro-6, 9-metano-2, 4, 3-benzodioxatien-3 óxido.

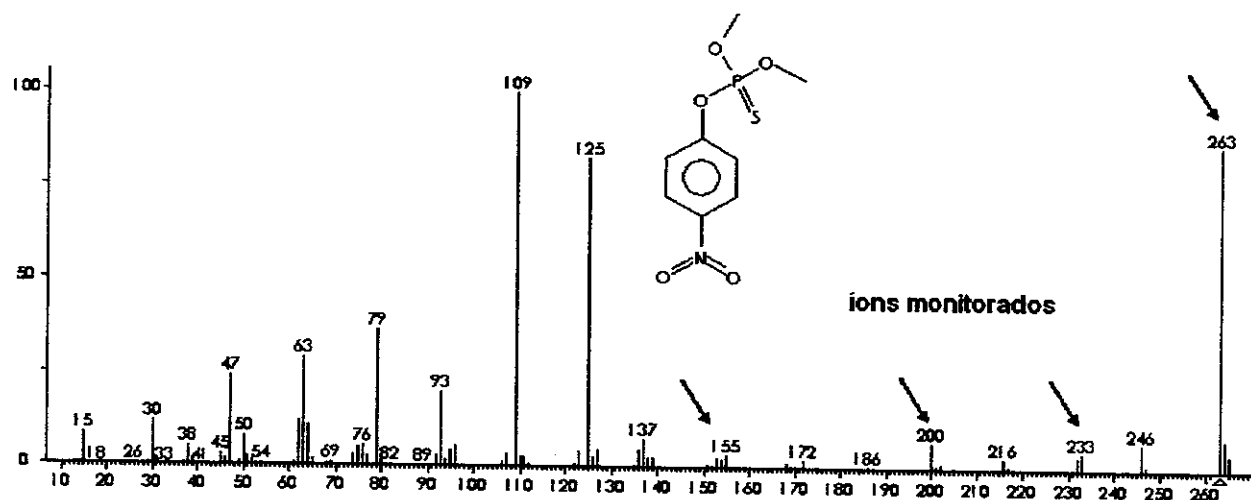
Número de registro (CAS): [959-98-8], NIST [59454].

Usado em inseticida e acaricida não sistêmico.

Toxicologia: LD<sub>50</sub> (oral aguda) para ratos: 76 ( $\alpha$ ) e 240 ( $\beta$ ) mg kg<sup>-1</sup>. ADI: 0,008 mg kg<sup>-1</sup>.

Propriedades: Sólido cristalino (mistura de dois isômeros  $\alpha$  e  $\beta$ ); p.f. 109 °C ( $\alpha$ ) e 213,3 °C ( $\beta$ ); p.v. 0,83 mPa (20 °C) para mistura 2:1  $\alpha/\beta$ ; log K<sub>ow</sub> ( $\alpha$ ) 4,74 e ( $\beta$ ) 4,79 (ambos a pH 5). Solubilidade em água 0,32 ( $\alpha$ ) e 0,33 mg L<sup>-1</sup> ( $\beta$ ) (20 °C); diclorometano 200, tolueno 65, hexano 24 (g L<sup>-1</sup>, 20°C). Estável a radiação solar. Hidrólise lenta em meios ácidos e básicos.

3) **Metilparation.**  $C_8H_{10}NO_5PS$ , massa molar 263.



Nome da IUPAC: Ester O,O-dimetil O-(4-nitrofenil) ácido fosforiótico.

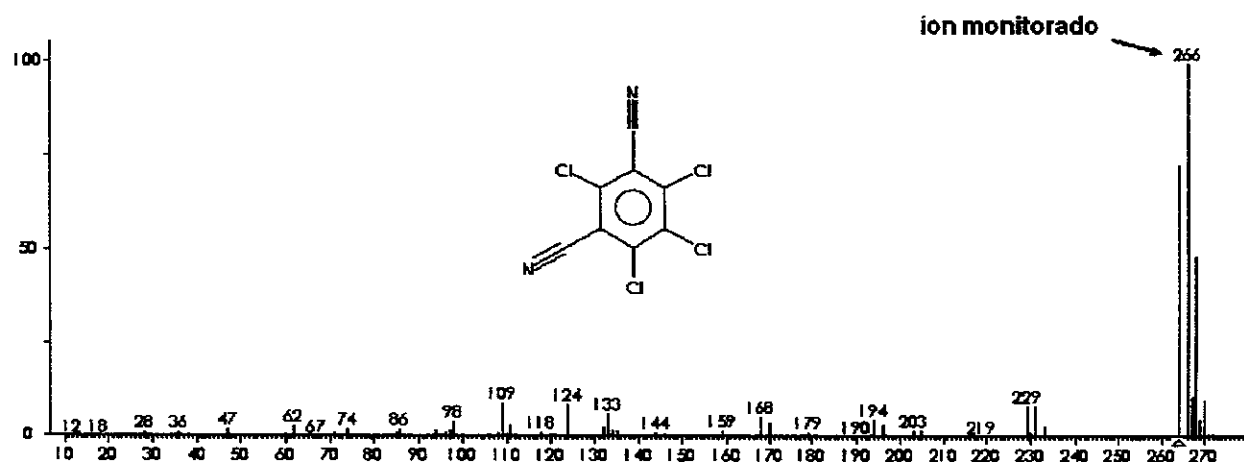
Número de registro (CAS): [959-98-8], NIST [59454].

Usado como inseticida e acaricida não sistêmico.

Toxicologia: LD<sub>50</sub> (oral aguda) para ratos: 6 mg kg<sup>-1</sup>. ADI: 0,02 mg kg<sup>-1</sup>.

Propriedades: Sólido cristalino; p.f. 35-36 °C; p.e. 154 °C (136 Pa); p.v. 0,2 mPa (20 °C); log K<sub>ow</sub> 3. Solubilidade em água 55 mg L<sup>-1</sup> a 20°C; tolueno > 200; hexano 10-20 (g L<sup>-1</sup>, 20 °C). Hidrólise em meio ácido e básico.

4) **Clorotalonil.**  $C_8Cl_4N_2$ , massa molar 264.



Nome da IUPAC: Tetracloroisoftalonitrila.

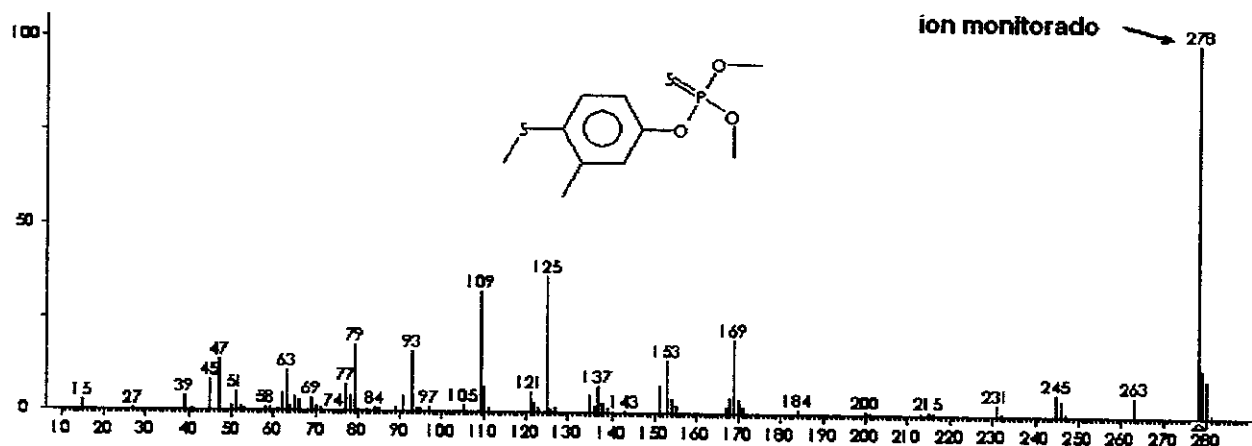
Número de registro (CAS): [1897-45-6], NIST [125502].

Usado como fungicida foliar não sistêmico.

Toxicologia: LD<sub>50</sub> (oral aguda) para ratos: > 10.000 mg kg<sup>-1</sup>. ADI: 0,03 mg kg<sup>-1</sup>.

Propriedades: Sólido cristalino; p.f. 250 – 251 °C; p.e. 350 °C, p.v. 0,076 mPa (25 °C); log K<sub>ow</sub> 2,89. Solubilidade em água 0,9 mg L<sup>-1</sup> (25 °C); xileno 80; acetona 20; querosene < 10 (g kg<sup>-1</sup>, 25 °C). Estável a temperatura ambiente, a radiação UV, em meio aquoso e no estado cristalino. Estável em meios moderadamente ácidos ou básicos (hidrólise lenta a pH 9).

5) **Fention.**  $C_{10}H_{15}O_3PS_2$ , massa molar 278.



Nome da IUPAC: ácido fosfórico O.O-dimetil O-[3-metil-4-(metiltio) fenil ester,

Número de registro (CAS): [55-38-9], NIST [245224].

Uso: inseticida, acaricida.

Propriedades: líquido, ponto de ebulição 87 °C,  $d_4^{20}$  1,250. Termicamente estável a 210 °C, solúvel em metanol, etanol, éter e acetona. Insolúvel em água (55 mg / L).

Toxicologia: LD<sub>50</sub> oral em ratos macho ou fêmea de 215, 245 mg / kg.

**REFÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.**

1. Mester, Z; Sturgeon, R; Pawliszyn, J. Solid phase microextraction as a tool for trace element speciation. *Spectrochimica Acta* part B. 56, (2001) 233-260.
2. Fliszar, K.; Wiggins, J.M.; Pignoli, C.M.; Martin, G.P.; Li, Zhong. Analysis of organic volatile impurities in pharmaceutical excipients by static headspace capillary gas chromatography. *Journal of Chromatography A*. 1027, (2004) 83-91.
3. Otero, R.R.; Grande, B.C.; Gándara, J.S. Multiresidue method for fourteen fungicides in white grapes by liquid-liquid and solid-phase extraction followed by liquid chromatography-diode array detection. *Journal of Chromatography A*. 992, (2003) 121-131.
4. Pawliszyn, J.; Sample Preparation: Quo Vadis? *Analytical Chemistry*. 75, 11, (2003) 2543-2558.
5. Shen, G.; Lee, H.K.; Headspace Liquid-Phase Microextraction of Chlorobenzenes in Soil with Gas Chromatography-Electron Capture Detection. *Analytical Chemistry*. 75, (2003) 98-103.
6. Snow, N.H.; Slack, G.C. Headspace analysis in modern gas chromatography. *Trends in Analytical Chemistry*. 21, (2002) 9+10.
7. Volmer, D.A.; Hui, J.P.M. Rapid SPME/LC/MS/MS analysis of N-methylcarbamate pesticides in water. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. 35, (1998) 1-7.
8. Arthur, C.L.; Pawliszyn, J. Solid-phase Microextraction with thermal-desorption using fused-silica optical fibers. *Analytical Chemistry*. 62, (1990) 2145-2148.
9. Chong, S.L.; Wang, D.X.; Hayes, J.D.; Wilhite, B.W.; Malik, A. Sol-Gel Coating Technology for the Preparation of Solid-Phase Microextraction Fibers of Enhanced Thermal Stability. *Analytical Chemistry*. 69, 19, (1997) 3889-3898.

10. Zhou, Z.P.; Wang, Z.Y.; Wu, C.Y.; Zhan, W.; Xu, Y. Sol-gel method for the preparation of solid-phase microextraction fibers. *Analytical Letters*. 32, 8, (1999) 1675-1681
11. Pawliszyn, J. *Solid Phase Microextraction. Theory and Practice*. John Wiley & Sons, Inc, 605 Third Avenue, New York, NY.
12. Valente, A.L.P.; Augusto, F.; Microextração em Fase Sólida. *Química Nova*. 23, 4, (2000) 523-530.
13. Zini, C.A. Estudo dos Compostos Voláteis de Algumas Espécies de Eucalipto Através do uso de Microextração em Fase Sólida no Modo Headspace (HS-SPME). *Tese de Doutorado*, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Química. Porto Alegre, 2002.
14. Santos, F.J.; Galceran, M.T.; Fraisse, D. Application of solid-phase microextraction to the analysis of volatile organic compounds in water. *Journal of Chromatography A*. 742, (1996) 181-189.
15. Nilsson, T.; Ferrari, R.; Facchetti, S. Inter-laboratory studies for the validation of solid-phase microextraction for the quantitative analysis of volatile organic compounds in aqueous samples. *Analytica Chimica Acta*. 356, (1997), 113-123.
16. Negrão, M.R.; Alpendurada, M.F. Solvent-free method for the determination of polynuclear aromatic hydrocarbons in waste water by solid-phase microextraction high performance liquid chromatography with photodiode-array detection. *Journal of Chromatography A*. 823, (1998), 211-218.
17. Hernandez, F.; Beltran, J.; Lopez, F.J.; Gaspar, J.V. Use of solid phase microextraction for the quantitative determination of herbicides in soil and water samples. *Analytical Chemistry*. 72, 10, (2000) 2313-2322.
18. Nilsson, T.; Baglio, D.; Galdo-Miguez, I.; Madsen, J.O.; Facchetti, S. Derivatisation/solid-phase microextraction followed by gas chromatography mass

- spectrometry for the analysis of phenoxy acid herbicides in aqueous samples. *Journal of Chromatography A*. 826, (1998) 211-216.
19. Natangelo, M.; Tavazzi, S.; Fanelli, R.; Benfenati, E. Analysis of some pesticides in water samples using solid-phase microextraction-gas chromatography with different mass spectrometric techniques. *Journal of Chromatography A*. 859, (1999) 193-201.
20. Lambropoulou, D.A.; Albanis, T.A. Determination of the fungicides vinclozolin and dicloran in soils using ultrasonic extraction coupled with solid-phase microextraction. *Analytica Chimica Acta*. 514, (2004) 125-130.
21. Penalver, A.; Pocurull, E.; Borrull, F.; Marcé, R.M. Determination of phthalate esters in water samples by solid-phase microextraction and gas chromatography with mass spectrometric detection. *Journal of Chromatography A*. 872, (2000) 191-201.
22. Penalver, A.; Pocurull, E.; Borrull, F.; Marcé, R.M. Comparison of different fibers for the solid-phase microextraction of phthalate esters from water. *Journal of Chromatography A*. 922, (2001) 377-384.
23. Prokupková, G.; Holadová, K.; Poustka, J.; Hajslová, J. Development of a solid-phase microextraction method for the determination of phthalic acid esters in water. *Analytica Chimica Acta*. 457, (2002) 211-223.
24. Moeder, M.; Schrader, S.; Winkler, M.; Popp, P. Solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry of biologically active substances in water samples. *Journal of Chromatography A*. 873, (2000) 95-106.
25. Pawliszyn, J. Sampling and sample preparation for field and laboratory: fundamental and new directions in sample preparation. *Wilson & Wilson's*. 37, (2002) 709.
26. Takeoka, G.R.; Buttery, R.G.; Flath, R.A. Volatile constituents of Asian pear (*Pyrus-Serotina*) *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 40, (1992) 1925-1929.

27. Ibáñez, E.; López-Sebastián, S.; Ramos, E.; Tabera, J.; Reglero, G. Analysis of volatile fruit components by headspace solid-phase microextraction. *Food Chemistry*. 63, (1998) 281-286.
28. Jia, M.; Zhang, Q.H.; Min, D.B. Optimization of solid-phase microextraction analysis for headspace flavor compounds of orange juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 46, (1998) 2744-2747.
29. Jia, M.; Zhang, Q.H.; Min, D.B. Pulsed electric field processing effects on flavor compounds and microorganisms of orange juice. *Food Chemistry*. 65, (1999) 445-451.
30. Freita, A.M.C.; Parreira, C.; Vilas-Boas, L. Comparison of Two SPME Fibers for Differentiation of Coffee by Analysis of Volatile Compounds. *Chromatographia*. 54, (2001) 647-652.
31. Sarrazin, C.; Le Quéré, J.L.; Gretsch, C.; Liardon, R. Representativeness of coffee aroma extracts: a comparison of different extraction methods. *Food Chemistry*. 70, (2000) 99-106.
32. Pérès, C.; Viallon, C.; Berdagué, J. Solid-phase microextraction spectrometry: A new approach to the rapid characterization of cheeses. *Analytical Chemistry*. 73, 5, (2001) 1030-1036.
33. Mondy, N.; Naudin, A.; Chistides, J.P.; Mandon, N.; Auger, J. Comparison of GC-MS and HPLC for the analysis of Allilum volatiles. *Chromatographia Suppl.* 53, (2001) S-356-S-360.
34. Insa, S.; Salvadó, V.; Ântico, E. Development of solid-phase extraction and solid-phase microextraction methods for the determination of chlorophenols in cork macerate and wine samples. *Journal of Chromatography A*. 1074, (2004) 15-20.
35. Sen, N.P.; Seaman, S.W.; Page, B.D. Rapid semi-quantitative estimation of N-nitrosodibutylamine and N-nitrosodibenzylamine in smoked hams by solid-phase

- microextraction followed by gas chromatography thermal energy. *Journal of Chromatography A*. 788, (1997) 131-140.
- 36.Hashim, L.; Chaveron, H. Use of methylpyrazine ratios to monitor the coffee roasting. *Food Research International*. 28, 6, (1996) 619-623.
- 37.Cai, L.S.; Xing, J.; Dong, L.; Wu, C. Application of polyphenylmethyilsiloxane coated fiber for solid-phase microextraction combined with microwave-assisted extraction for the determination of organochlorine pesticides in Chinese teas. *Journal of Chromatography A*. 1015, (2003) 11-21.
- 38.Oliveira, A.M.; Pereira, N.R.; Junior, A.M.; Augusto, F. Studies on the aroma of cupuassu liquor by headspace solid-phase microextraction and gas chromatography. *Journal of Chromatography A*. 1025, (2004) 115-124.
- 39.Koster, E.H.M.; Wemes, C.; Morsink, J.B.; Jong G.J. Determination of lidocaine in plasma by direct solid-phase microextraction combined with gas chromatography. *Journal of Chromatography B*. 739, (2000) 175-182.
- 40.Deng, C.; Zhang, X.. A simple, rapid and sensitive method for determination of aldehydes in human blood by gas chromatography/mass spectrometry and solid-phase microextraction with on-fiber derivatization. *Rapid Communication in Mass Spectrometry*. 18, (2004) 1715-1720.
- 41.Ciola, R. *Fundamentos da Cromatografia Líquida de Alto Desempenho, HPLC*. Editora Edgard Blucher Ltda. 2000.
- 42.Chen, J.; Pawliszyn, J.B. Solid-phase Microextraction Coupled To High-Performance Liquid-Chromatography. *Analytical Chemistry*. 67, 15, (1995) 2530-2533.
- 43.Popp, P.; Bauer, C.; Moder, M.; Paschke, A. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in waste water by off-line coupling of solid-phase microextraction with column liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*. 897, (2000) 153-159.

44. Salleh, S.H.; Saito, Y.; Kislo, Y.; Jinno, K. Solventless sample preparation procedure for organophosphorus pesticides analysis using solid phase microextraction and on-line supercritical fluid extraction/high performance liquid chromatography technique. *Analytical Chimica Acta*. 433, (2001) 207-215.
45. Meste, Z.; Lam, J.; Sturgeon, R.; Pawliszyn, J. Determination of methylmercury by solid-phase microextraction inductively coupled plasma mass spectrometry: a new sample introduction method for volatile metal species. *Journal Analytical Atomic Spectrometry*. 15, (2000) 837-842.
46. Fragueiro, M.S.; Alava-Moreno, F.; Lavilla, I.; Bendicho, C. Determination of methylcyclopentadienyl-manganese tricarbonyl by solid phase microextraction-direct thermal desorption-quartz furnace atomic absorption spectrometry. *Spectrochimica Acta Part B*. 56, (2001) 215-221.
47. Bartelt, R.J.; Zilkowski, B.W. Nonequilibrium quantitation of volatiles in air streams by solid-phase microextraction. *Analytical Chemistry*. 71, (1999) 92-101.
48. Augusto, F.; Koziel, J.; Pawliszyn, J. Design and validation of portable SPME devices for rapid field air sampling and diffusion based calibration. *Analytical Chemistry*. 73, (2001) 481-486.
49. Koziel, J.; Jia, M.; Pawliszyn, J. Air sampling with porous solid-phase microextraction fibers. *Analytical Chemistry*. 72, (2000) 5178-5186.
50. Ai, J. Solid phase microextraction for quantitative analysis in nonequilibrium situations. *Analytical Chemistry*. 69, (1997) 1230-1236.
51. Sukola, K.; Koziel, J.; Augusto, F.; Pawliszyn, J. Diffusion-based calibration for SPME analysis of aqueous samples. *Analytical Chemistry*. 73, (2001) 13-18.
52. Wu, J.; Mullett, W.M.; Pawliszyn, J. Electrochemically controlled solid-phase microextraction based on conductive polypyrrole films. *Analytical Chemistry*. 74, (2002) 4855-4859.

53. Liu Y.; Shen, YF.; Lee, ML. Porous layer solid phase microextraction using silica banded phases. *Analytical Chemistry*. 69, (1997) 190-195.
54. Minakuchi, H.; Ishizuka, N.; Nakanishi, K.; Soga, N.; Tanaka, N. Performance of an octadecylsilylated continuous porous silica column in polypeptide separations. *Journal of Chromatography A*. 828, (1998) 83-90.
55. Schedl, M.; Wilharm, G.; Achatz, S.; Kettrup, A.; Niessner, R.; Knopp, D. Monitoring polycyclic aromatic hydrocarbon metabolites in human urine: Extraction and purification with a sol-gel glass immunosorbent. *Analytical Chemistry*. 73, (2001) 5669-5676.
56. Hayes, J.D.; Malik, A. Sol-gel chemistry-based Ucon-coated columns for capillary electrophoresis. *Journal of Chromatography B*. 695, (1997) 3.
57. Chong, S.L.; Wang, D.; Hayes, J.D.; Wilhite, D.W.; Malik, A. Sol-gel coating technology for the preparation of solid-phase microextraction fibers of enhanced thermal stability. *Analytical Chemistry*. 69, (1997) 3889-3898.
58. Ligor, M.; Scibiorek, M.; Buszewski, B. New coating surfaces of fibers for solid-phase microextraction. *J. Microcolumn Separations*. 11, (1999) 377.
59. Wang, Z.; Xiao, C.; Wu, C.; Han, H. High-performance polyethylene glycol-coated solid-phase microextraction fibers using sol-gel technology. *Journal of Chromatography A*. 893, (2000) 157.
60. Gbatu, T.P.; Sutton, K.L.; Caruso, J.A. Development of new SPME fibers by sol-gel technology for SPME-HPLC determination of organometals. *Analytica Chimica Acta*. 402, (1999) 67-69.
61. Silva, R.C.; Aguiar, P.M.S.; Augusto, F. Coupling of Dynamic Headspace Sampling and Solid Phase Microextraction. *Chromatographia*. 60, (2004) 687-691.
62. Braggins, T.J.; Grimm, C.C.; Visser, F.R.; In: *Applications of Solid Phase Microextraction*, J. Pawliszyn (ed) RSC. Cambridge (1999).

63. Vitenberg, A.G.; Ioffe, B.V. Basic Equations in Continuous Gas Extraction and Their Application to Headspace Analysis. *Journal Chromatography A*. 471, (1989) 55-60.
64. Long, G.L.; Winefordner, J.D. Limit of detection. *Analytical Chemistry*. 55 (1983) 712A-724A.
65. Gorgenyi, M.; Dewulf, J.; Langenhove, H.V. Temperature dependence of Henry's law constant in an extended temperature range. *Chemosphere*. 48, (2002) 757-762.
66. Sander, R. Compilation of Henry's Law Constants for Inorganic and Organic Species of Potential Importance in Environmental Chemistry. Max-Planck Institute of Chemistry, Mainz. [www.mpch-mainz.mpg.de/~sander/res/henry.html](http://www.mpch-mainz.mpg.de/~sander/res/henry.html).
67. Péres, C.; Viallon, C.; Berdagué, J.L. Solid-phase microextraction spectrometry: A new approach to the rapid characterization of cheeses. *Analytical Chemistry*. 73, (2001) 1030-1036.
68. Mendes, M.A.; Sparrapan, R.; Eberlin, M.N. Headspace membrane introduction mass spectrometry for trace level analysis of VOCs in soil and other solid matrixes. *Analytical Chemistry*. 72, (2000) 2166-2170.
69. Lauritsen, F.R.; Rose, J. Determination of steroid hormones by membrane inlet mass spectrometry and desorption chemical ionization. *Analyst*. 125, (2000) 1577-1581.
70. Mendes, M.A.; Eberlin, M.N. Trace level analysis of VOCs and semi-VOCs in aqueous solution using a direct insertion membrane probe and trap and release membrane introduction mass spectrometry. *Analyst*. 125, (2000) 21-24.
71. Vellasco, A.P.; Haddad, R.; Eberlin, M.N.; Hôehr, N.F. Combined cysteine and homocysteine quantitation in plasma by trap and release membrane introduction mass spectrometry. *Analyst*. 127, (2002) 1050-1053.

72. Meurer, E.C.; Tomazela, D.M.; Silva, R.C.; Augusto, F.; Eberlin, M.N. Fiber introduction mass spectrometry: Fully direct coupling of solid-phase microextraction with mass spectrometry. *Analytical Chemistry*. 74, (2002) 5688-5692.
73. Ramsey, R.S.; Goeringer, D.E.; McLuckey, S.A. Active-chemical Background-noise Reduction in Capillary Electrophoresis/ion Trap Mass-Spectrometry. *Analytical Chemistry*. 65, (1993) 3521-3524.
74. Lopes, A.L.; Augusto, F. Preparation and characterization of polydimethylsiloxane/poly(vinylalcohol) coated solid phase microextraction fibers using sol-gel technology. *Journal of Chromatography A*. 1056, (2004) 13-19.
75. Luks-Betlej, K.; Popp, P.; Janoszka, B.; Paschke, H. Solid-phase microextraction of phthalates from water. *Journal of Chromatography A*, 938, (2001), 93-101.
76. US EPA, National Primary Drinking Water Regulations, Federal Register, Part 12, 40 CFR Part 141, US Environmental Protection Agency, Washington, USA, 7/1/1991, p. 395.
77. Ho, W.-H.; Hsieh, S.-J. Solid phase microextraction associated with microwave assisted extraction of organochlorine pesticides in medicinal plants. *Analytica Chimica Acta*. 428 (2001), 111-120.
78. Zuin, V.G.; Yariwake, J.H.; Bicchi, C. Fast supercritical fluid extraction and high-resolution gas chromatography with electron-capture and flame photometric detection for multiresidue screening of organochlorine and organophosphorus pesticides in Brazil's medicinal plants. *Journal of Chromatography A*. 985 (2003), 159-166.
79. Zuin, V.G.; Lopes, A.L.; Yariwake, J.H.; Augusto, F. Application of a novel sol-gel polydimethylsiloxane-poly(vinyl alcohol) solid-phase microextraction fiber for gas chromatographic determination of pesticide residues in herbal infusions. *Journal of Chromatography A*. 1056 (2004), 21-26.