

# **Análise cromatográfica e identificação de marcadores de envelhecimento de documentos gráficos**

**José Carlos Coelho Santana**

Dissertação apresentada para obtenção do grau de  
Mestre em Bioorgânica

Orientadora: Professora Doutora Elvira Gaspar

Lisboa

2009

## **AGRADECIMENTOS**

À Professora Elvira Gaspar, por tudo o que fez por mim e por me ajudar a crescer como aluno e como pessoa.

Aos meus colegas de laboratório, Sara Pires, João Lopes e Inês Nunes, por toda a amizade, companheirismo durante este ano e pela ajuda na realização desta tese.

À Vanessa Soromenho, por estares sempre presente, nos bons e nos maus momentos e por me ajudares a enfrentar todas as dificuldades.

À minha família, e em especial, à minha mãe, Maria Natalina Santana e aos meus tios/segundos pais, Augusto Coelho e Isabel Coelho, por todo o incentivo e apoio que me deram durante o percurso académico.

E finalmente, queria dedicar esta tese ao meu pai, José Eduardo Catarino da Cruz Santana, apesar de já não te encontrares entre nós, nunca me esqueci de ti e senti muito a tua falta, sei que onde quer que estejas estás a olhar por mim. A minha maior tristeza é não te ter conhecido como gostava e foi muito difícil durante estes 22 anos não te ter ao pé de mim.

## RESUMO

A presente dissertação descreve o desenvolvimento de um método analítico para a identificação de compostos orgânicos voláteis (VOC's) emitidos por materiais celulósicos, nomeadamente livros. O objectivo principal foi o estabelecimento de perfis químicos do material de origem, celulose, de modo a tornar possível a identificação de marcadores do tipo de celulose – celulose de algodão ou madeira, bem como do seu estado de conservação/degradação.

Utilizou-se a micro-extracção em fase sólida associada à cromatografia gasosa e espectrometria de massa (HS-SPME-GC-MS). Para validação do método, foram estudados parâmetros experimentais: tipo de fibra, tempo de exposição, tempo de desorção, temperaturas do injector e detector, programa cromatográfico, tendo sido igualmente estabelecidos os melhores parâmetros espectrométricos.

Como resultado do estudo dos VOCs emitidos pelos livros foram identificados 22 compostos. Pela primeira vez, foram identificados marcadores de um dos tipos de celulose utilizada na manufactura de livros pertencentes ao património cultural. O estudo da quiralidade dos compostos foi pela primeira vez utilizado em materiais de interesse histórico, tendo-se constatado ser uma área importante, uma vez que apenas um dos enantiómeros de um dos compostos alvo está presente nos livros.

## **ABSTRACT**

The present thesis describes the development of an analytical methodology for the identification of volatile organic compounds, VOC's, emitted by cellulosic materials, particularly books. The main objective was the establishment of the chemical profiles of the source material, cellulose, to make possible the identification of markers – cotton and wood cellulose, as well as the analysis of conservation/degradation state.

As analytical tool, solid phase microextraction coupled to gas chromatography and mass spectrometry (HS-SPME-GC-MS) was used. For validation of methodology, experimental parameters were studied: type of fiber, extraction time, desorption time, injector and detector temperatures, and chromatographic program and it was also established the best spectral parameters.

The study of VOC's emitted by the books, allowed the identification of 22 compounds. For the first time, markers were identified for cotton cellulose used in the manufacture of books belonging to cultural heritage. The chirality of the compounds studied for the first time in materials of historical interest, it is an important area - only one of the enantiomers of a target compound was identified in the books.

## APRESENTAÇÃO DE RESULTADOS

Os resultados obtidos nesta tese permitiram:

1 - Comunicação oral no Euroanalysis2009 - “Organic Metabolites in paper – an approach for identification of biomarkers in aged books”, Setembro de 2009, Innsbruck.

2 - Publicação (*full paper*), Gaspar, E. M., Santana, J., Lopes, J. F., Diniz, M. B., (2009) Organic metabolites in paper – an approach for identification of markers in aged books, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2009, submetida.

# ÍNDICE GERAL

AGRADECIMENTOS .....	II
RESUMO .....	III
ABSTRACT .....	IV
APRESENTAÇÃO DE RESULTADOS .....	V
ÍNDICE GERAL .....	VI
ÍNDICE DE ABREVIATURAS .....	VIII
ÍNDICE DE FIGURAS .....	X
ÍNDICE DE TABELAS .....	XIV
1. INTRODUÇÃO .....	2
1.1 História do papel .....	2
1.2 Principais constituintes .....	3
1.2.1 Celulose .....	3
1.2.2 Hemicelulose .....	4
1.2.3 Lenhina .....	5
1.3 Processos de fabrico .....	6
1.4 Degradação .....	6
1.5 Parâmetros Analíticos .....	7
1.5.1 pH .....	7
1.5.2 Grau de Polimerização (DP) .....	8
1.5.3 Compostos orgânicos voláteis em materiais celulósicos .....	8
1.6 Métodos Analíticos .....	11
1.6.1 Preparação de Amostra .....	11
1.6.2 Métodos Cromatográficos .....	13
2. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	15
2.1 Objectivos .....	15
2.2 Desenvolvimento de método HS-SPME-GC/MS .....	15
2.2.1 Escolha de fibra .....	15
2.2.2 Determinação do tempo de extracção .....	19
2.2.3 Análise de VOC's .....	21
2.2.4 Análise quiral .....	22
2.3 Análise de compostos voláteis de livros .....	25
2.3.1 2-Furfural nos livros .....	28

2.3.2 Compostos voláteis em livros de celulose de algodão – potenciais marcadores .....	32
2.3.3 Análise quiral .....	35
3. CONCLUSÕES .....	40
4. PARTE EXPERIMENTAL.....	42
4.1 Reagentes .....	42
4.1.1 Solventes e Padrões utilizados .....	42
4.1.2 Preparação de soluções padrão. ....	42
4.2 Preparação e recolha da amostra .....	42
4.2.1 Livros antigos.....	42
4.2.2 Armazenamentos dos livros.....	43
4.3 Extracção de componentes voláteis .....	43
4.3.1 HS-SPME.....	43
4.4 Instrumentação e condições cromatográficas .....	44
4.4.1 Análises por GC/MS.....	44
4.4.2 análises por GC/FID.....	46
4.5 Síntese de padrões analisados .....	46
4.5.1 Síntese dos ésteres isopropílicos .....	46
4.5.2 Síntese dos ésteres metílicos .....	46
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	48

# ÍNDICE DE ABREVIATURAS

**2-F** - 2-Furfural

**5-HMF** – 5-Hidroximetilfurfural

**AC** – Antes de Cristo

**CAR/PDMS** – carboxeno/polidimetilsiloxano

**CE** - Electroforese Capilar

**CW/DVB** – Carbowax/divenilbenzeno

**CZE** – Electroforese Capilar de Zona

**DAD** – Detecção por fotodiodos

**DC** – Depois de Cristo

**DP** – Grau de polimerização

**DVB/CAR/PDMS** - Divinilbenzeno/carboxeno/polidimetilsiloxano

**EI+** - Impacto electrónico positivo

**FID** - Detector de ionização à chama

**GC** - Cromatografia gasosa

**GC-MS** - Cromatografia gasosa com detecção por espectrometria de massa

**HPLC** – Cromatografia líquida de alta eficiência

**HS** - Espaço à cabeça (*headspace*)

**LC** – Cromatografia líquida

**m** – Unidade de comprimento, metro

**mg** - Unidade de massa, miligrama

**min.** - Unidade de tempo, minutos

**mL** - Unidade de volume, mililitro

**MM** – Massa molecular

**mm** - Unidade de comprimento, milímetro

**MS** - Espectrometria de massa

**SEC** – Cromatografia de exclusão molecular

**SPME** - Microextração em fase sólida

**PA** – poliacrilato

**PEG** – polietileno glicol

**PDMS** – polidimetilsiloxano

**TIC** – corrente iônica total

**VOCs** – Compostos orgânicos voláteis

**µm** – Unidade de comprimento, micrómetro

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1 - Estrutura da celulose .....	4
Figura 1.2 – Estrutura da Hemicelulose .....	4
Figura 1.3 – Estrutura da lenhina .....	5
Figura 1.4 - Precursores da lenhina: 1) álcool p-cumarílico; 2) álcool coniferílico; 3) álcool sinapílico;.....	5
Figura 1.5 – Mecanismos (1 e 2) propostos para a formação de furfural e formáldeido a partir da hidrólise ácida da celulose.....	9
Figura 1.6 – Mecanismo de formação do furfural a partir da hemicelulose .....	10
Figura 1.7 – Mecanismo de formação da vanilina .....	10
Figura 1.8 – SPME: Esquema dos dois passos fundamentais (i) extracção e (ii) dessorção .....	11
Figura 2.1 – Análise cromatográfica de livros antigos. A – HS-SPME(CW-DVB)-GC/MS livro de celulose de polpa de madeira, B - HS-SPME(CW-DVB)-GC/MS livro de celulose de algodão. <b>17</b> – tetradecano (C <sub>14</sub> H <sub>30</sub> ); <b>18</b> – pentadecano (C <sub>15</sub> H <sub>32</sub> ); <b>19</b> – hexadecano (C <sub>16</sub> H <sub>34</sub> ); <b>20</b> – heptadecano (C <sub>17</sub> H <sub>36</sub> ); <b>21</b> – octadecano (C <sub>18</sub> H <sub>38</sub> ); <b>22</b> – isopropil miristato (C <sub>17</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub> ); <b>23</b> – nonadecano (C <sub>19</sub> H <sub>40</sub> ); <b>24</b> – isopropil palmitato (C <sub>19</sub> H <sub>38</sub> O <sub>2</sub> ) .....	16
Figura 2.2 – Análise cromatográfica de livros antigos. A – HS-SPME(PDMS)-GC/FID livro de celulose de polpa de madeira, B - HS-SPME(PDMS)-GC/FID livro de celulose de algodão. <b>17</b> – tetradecano (C <sub>14</sub> H <sub>30</sub> ); <b>18</b> – pentadecano (C <sub>15</sub> H <sub>32</sub> ); <b>19</b> – hexadecano (C <sub>16</sub> H <sub>34</sub> ); <b>20</b> – heptadecano (C <sub>17</sub> H <sub>36</sub> ); <b>21</b> – octadecano (C <sub>18</sub> H <sub>38</sub> ); <b>23</b> – nonadecano (C <sub>19</sub> H <sub>40</sub> ) .....	17

Figura 2.3 – Análise cromatográfica de livros antigos. A – HS-SPME(CAR/PDMS)-GC/FID livro de celulose de polpa de madeira, B - HS-SPME(CAR/PDMS)-GC/FID livro de celulose de algodão. **1** – 1-butanol (C<sub>4</sub>H<sub>10</sub>O); **2** – ácido acético (C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>O<sub>2</sub>); **3** – tolueno (C<sub>7</sub>H<sub>8</sub>); **5** – hexanal (C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O); **6** – 2-furfural (C<sub>5</sub>H<sub>4</sub>O<sub>2</sub>); **8** – heptanal (C<sub>7</sub>H<sub>14</sub>O); **11** – octanal (C<sub>8</sub>H<sub>16</sub>O); **12** – 2-etil-1-hexanol (C<sub>8</sub>H<sub>18</sub>O); **17** – tetradecano (C<sub>14</sub>H<sub>30</sub>); **18** – pentadecano (C<sub>15</sub>H<sub>32</sub>); **19** – hexadecano (C<sub>16</sub>H<sub>34</sub>); **20** – heptadecano (C<sub>17</sub>H<sub>36</sub>); **21** – octadecano (C<sub>18</sub>H<sub>38</sub>) ..... 18

Figura 2.4 – Análise de cromatogramas de livros antigos. A – HS-SPME(DVB/CAR/PDMS)-GC/FID livro de celulose de polpa de madeira, B - HS-SPME(DVB/CAR/PDMS)-GC/FID livro de celulose de algodão. **1** – 1-butanol (C<sub>4</sub>H<sub>10</sub>O); **2** – ácido acético (C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>O<sub>2</sub>); **3** – tolueno (C<sub>7</sub>H<sub>8</sub>); **4** – octano (C<sub>8</sub>H<sub>18</sub>); **5** – hexanal (C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O); **6** – 2-furfural (C<sub>5</sub>H<sub>4</sub>O<sub>2</sub>); **7** – nonano (C<sub>9</sub>H<sub>20</sub>); **8** – heptanal (C<sub>7</sub>H<sub>14</sub>O); **9** – fenol (C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>O); **10** – decano (C<sub>10</sub>H<sub>22</sub>); **11** – octanal (C<sub>8</sub>H<sub>16</sub>O); **12** – 2-etil-1-hexanol (C<sub>8</sub>H<sub>18</sub>O); **14** – nonanal (C<sub>9</sub>H<sub>18</sub>O); **16** – tridecano (C<sub>13</sub>H<sub>28</sub>); **17** – tetradecano (C<sub>14</sub>H<sub>30</sub>); **18** – pentadecano (C<sub>15</sub>H<sub>32</sub>); **19** – hexadecano (C<sub>16</sub>H<sub>34</sub>); **20** – heptadecano (C<sub>17</sub>H<sub>36</sub>); **21** – octadecano (C<sub>18</sub>H<sub>38</sub>) ..... 19

Figura 2.5 – Gráfico representativo do estudo do tempo de exposição da fibra CW/DVB: em abcissas mostra-se a corrente iónica total ..... 20

Figura 2.6 – Gráfico representativo do estudo do tempo de exposição da fibra DVB/CAR/PDMS: em abcissas mostra-se a corrente iónica total ..... 20

Figura 2.7 – Esquema reaccional da síntese utilizada para a preparação dos padrões dos ésteres isopropil miristato e isopropil palmitato ..... 22

Figura 2.8 – Análise quiral do ácido 2-metil-butírico por GC-FID. A – (*R*)-2-metil-butírico; B – (*S*)-2-metil-butírico ..... 23

Figura 2.9 – Esquema reaccional da metilação de ácidos carboxílicos utilizando diazometano ..... 25

Figura 2.10 – Espectro de massa do 2-furfural (C<sub>5</sub>H<sub>4</sub>O<sub>2</sub>). Análise efectuada por HS-SPME-GC/MS em modo de impacto electrónico positivo (EI+) ..... 29

Figura 2.11 – Análise cromatográfica de livros antigos feitos de celulose de madeira por HS-SPME(DVB/CAR/PDMS)-GC/FID. A – padrão do 2-furfural (**6**); B – Livro do ano 1930 (A selva) bom estado de conservação; C – Livro do ano 1927 (The sign of silence) degradado; D - Livro de 1941 (O primo Basílio) bom estado de conservação ..... 29

Figura 2.12 – Análise cromatográfica de livros antigos feitos de celulose de algodão por HS-SPME(DVB/CAR/PDMS)-GC/FID. A – padrão do 2-furfural (**6**); B – Livro do ano 1776, bom estado de conservação; C – Livro do ano 1708, bom estado de conservação; D - Livro de 1697, degradado ..... 30

Figura 2.13 – Análise cromatográfica de livros antigos por HS-SPME(CAR/PDMS)-GC/FID. **6** – 2-furfural; A – Livro do ano 1930 (A selva) bom estado de conservação; B – Livro do ano 1776, bom estado de conservação ... 31

Figura 2.14 – Espectros de massa do isopropil miristato ( $C_{17}H_{34}O_2$ ) e isopropil palmitato ( $C_{19}H_{38}O_2$ ). Análise efectuada por HS-SPME-GC/MS em modo de impacto electrónico positivo (EI+) ..... 32

Figura 2.15 – Análise cromatográfica de livros antigos feitos de celulose de algodão por HS-SPME(CW/DVB)-GC/MS. A – padrões dos ésteres isopropil miristato (**22**) e isopropil palmitato (**24**); B – Livro do ano 1620, bom estado de conservação ; C – Livro do ano 1786, bom estado de conservação; D - Livro de 1794, bom estado de conservação ..... 33

Figura 2.16 – Análise cromatográfica de livros antigos feitos de celulose de madeira por HS-SPME(CW/DVB)-GC/MS. A – padrões dos ésteres isopropil miristato (**22**) e isopropil palmitato (**24**); B – Livro do ano 1930 (A selva), bom estado de conservação; C – Livro do ano 1901 (Inês de Castro) degradado; D - Livro de 1941 (O primo Basílio), bom estado de conservação ..... 34

Figura 2.17 – Análise cromatográfica estereosselectiva de livros antigos feitos de celulose de madeira: HS-SPME(DVB/CAR/PDMS)-GC/FID. A – mistura racémica (*R*) e (*S*)-2-etil-1-hexanol; B – Livro do ano 1930 (A selva) bom estado de conservação;

C – Livro do ano 1927 (The sign of silence) degradado; D - Livro de 1941 (O primo Basílio) bom estado de conservação ..... 35

Figura 2.18 – Análise cromatográfica estereosselectiva de livros antigos feitos de celulose de algodão: HS-SPME(DVB/CAR/PDMS)-GC/FID. A – mistura racémica (*R*) e (*S*)-2-etil,-hexanol; B – Livro do ano 1776, bom estado de conservação; C – Livro do ano 1708, bom estado de conservação; D - Livro de 1697, degradado ..... 36

Figura 2.19 – Análise cromatográfica estereosselectiva de livros de celulose de Madeira: HS-SPME(DVB/CAR/PDMS)-GC/FID. A – Livro do ano 1930 (A selva) bom estado de conservação; B – Livro de 1941 (O primo Basílio) bom estado de conservação; C – Livro do ano 1927 (The sign of silence) degradado ..... 37

Figura 2.20 – Análise cromatográfica estereosselectiva de livros de celulose de algodão: HS-SPME(DVB/CAR/PDMS)-GC/FID. A – Livro do ano 1776, bom estado de conservação; B – Livro do ano 1708, bom estado de conservação; C - Livro de 1697, degradado ..... 37

## ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 2.1 – Tempos de retenção de padrões de alguns compostos analisados por GC-FID.....	21
Tabela 2.2 – Análise quiral por GC-FID de compostos padrão .....	24
Tabela 2.3 – Compostos voláteis identificados em livros antigos feitos de celulose de madeira por HS-SPME-GC-MS .....	26
Tabela 2.4 – Compostos voláteis identificados em livros antigos feitos de celulose de algodão por HS-SPME-GC-MS .....	27

# 1. INTRODUÇÃO

# 1. INTRODUÇÃO

## 1.1 História do papel

A palavra papel deriva do termo grego *papyrus*, usado para descrever o material utilizado no antigo Egito para a escrita. É necessário recuar até 3000 AC para datar o primeiro aparecimento do papel. Foi no Vale do Nilo, no antigo Egito, que a planta *Cyperous Papyrus* floresceu. Os egípcios, cortavam o caule da planta em finas tiras e suavizavam-nas nas águas do Nilo. Depois de amolecidas eram colocadas em fileiras verticais e horizontais, sobrepostas umas às outras. As tiras eram então colocadas entre dois pedaços de tecido de algodão e mantidas sob pressão durante 6 dias. E assim se formava o papel fino e amarelado ao qual se chamava *papyrus*. O *papyrus* era então a ferramenta para escrita utilizada pelos gregos, romanos e egípcios.

O papel como é conhecido hoje em dia, apareceu na China. Em 105 DC, o chefe eunuco T'sai Lun do imperador Ho-Ti, testou uma grande variedade de materiais e refinou o processo de maceração das fibras das plantas. As fibras eram misturadas com água num caldeirão e a seguir, com a ajuda de uma tela, as fibras eram submergidas. Depois de seca, esta fina camada de fibra entrelaçada tornou-se no que chamamos hoje papel.

O segredo da produção do papel propagou-se lentamente pela Ásia até ao Nepal e mais tarde até à Índia. A grande propagação do segredo da produção de papel deu-se quando a China esteve em guerra com o mundo islâmico em 751 DC. Numa das batalhas, guerreiros islâmicos capturaram uma caravana chinesa onde seguiam alguns fabricantes de papel. A partir desse momento, o fabrico do papel foi-se espalhando pelo mundo muçulmano. E no século VIII os mouros do norte de África decidiram invadir Portugal e Espanha, mas apenas introduzindo a arte do fabrico de papel na Europa apenas no século XII.

Na Europa, o uso do *papyrus* caiu em desuso no século IX. O pergaminho sendo mais liso e brilhante, era então o material mais utilizado pelos artistas e literários da época. No entanto, o pergaminho sendo obtido a partir de peles de animais, tornava-

se extremamente caro. Uma simples bíblia manuscrita em pergaminho necessitava de pelo menos 300 peles de ovelha. Só no século XV, quando Johann Gutenberg imprimiu a sua famosa bíblia é que o papel ganhou importância para o quotidiano e para a comunicação global. O século XV marcou o nascimento do papel moderno e da indústria gráfica.

A tecnologia de impressão desenvolveu-se rapidamente, o que criou uma crescente procura de papel. Os primeiros tipos de papel a aparecer na Europa eram feitos de algodão e linho reciclados. Outras fibras foram experimentadas mas sem grandes resultados. Actualmente, a principal fonte de celulose para o fabrico de papel é a madeira [1,2].

## **1.2 Principais constituintes**

O papel se for oriundo da madeira, é maioritariamente constituído por celulose mas pode conter também outros polímeros (hemicelulose e lenhina) e um número de substâncias como resina, amido, alumínio e minerais que são adicionados durante o processo de formação da polpa de madeira [3].

O algodão, considerado celulose pura, apresenta traços de ceras, proteínas, pectinas, água e outros materiais não celulósicos, sendo outro dos materiais utilizados na manufactura do papel [4,5].

### **1.2.1 Celulose**

A celulose (Figura 1.1) é um polímero de cadeia longa constituído por várias unidades de  $\beta$ -D-glucose unidas por ligações glicosídicas  $\beta(1\rightarrow4)$  [6]. Esta é o composto orgânico mais abundante na terra e tem como fórmula molecular  $(C_6H_{10}O_5)_n$ ; é também um dos principais constituintes das paredes celulares das plantas (33% do peso da planta), a par da lenhina, hemicelulose e pectina. O teor de celulose no algodão é cerca de 90% e na biomassa lenhinocelulósica, o teor de celulose varia, dependendo do tipo de biomassa, e está compreendido entre 38 e 50%.

Para o uso industrial, a celulose é obtida a partir da polpa de madeira e do algodão. Esta é principalmente usada na produção de papel e papelão, e em menor

escala, é convertida numa gama de produtos derivados como o celofano e o *rayon* [7].

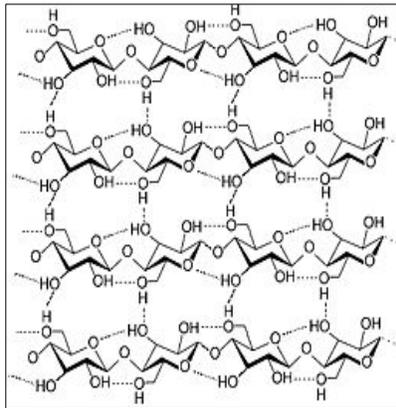


Figura 1.1 - Estrutura da celulose [7].

### 1.2.2 Hemicelulose

Ao contrário da celulose, a hemicelulose (Figura 1.2) é quimicamente heterogénea. É constituída principalmente por polímeros heterogéneos de pentoses (xilose, arabinose), hexoses (manose, glucose, galactose) e ácido 4-O-metilglucurónico, e resíduos de ácido galacturónico. A hemicelulose é o segundo polissacárido mais comum na natureza constituindo aproximadamente 20-35% da biomassa lenhinocelulósica. Comparativamente à celulose que tem uma estrutura cristalina, forte e resistente à hidrólise, a hemicelulose tem uma estrutura amorfa e fraca e é facilmente hidrolisada com ácidos e bases fracas [8].

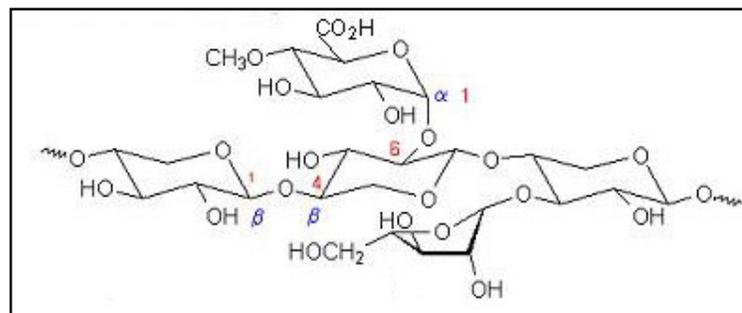


Figura 1.2 – Estrutura da hemicelulose [9].

### 1.2.3 Lenhina

A lenhina (Figura 1.3) é o polímero aromático mais abundante na natureza e corresponde a 10-30% da biomassa ligninocelulósica [10]. A sua constituição depende do tipo de biomassa e pode ser constituída por unidades de álcoois p-cumarílico (1), coniferílico (2), e sinapílico (3) (Figura 1.4).

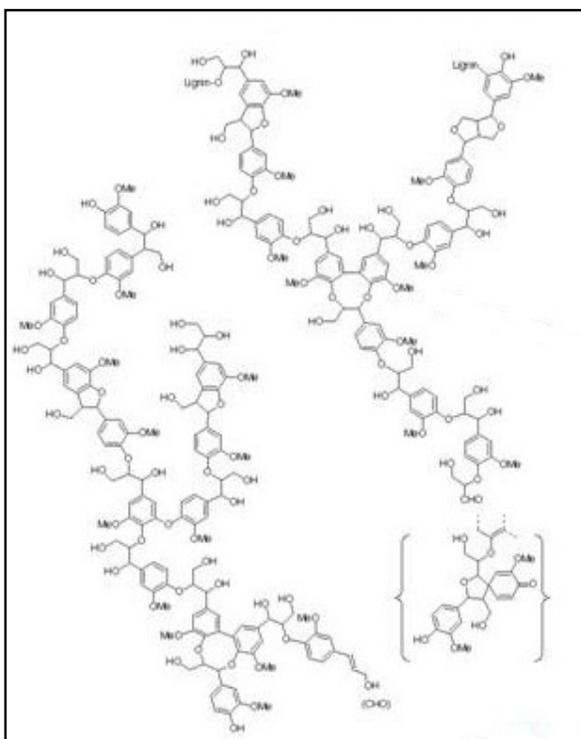


Figura 1.3 – Estrutura da lenhina.[9]

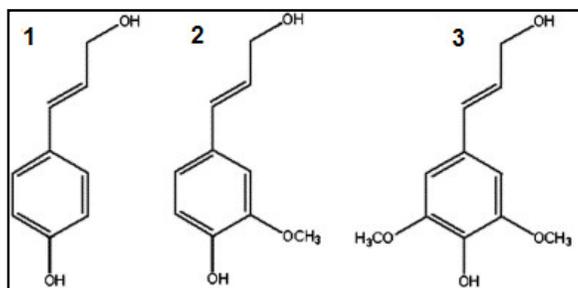


Figura 1.4 – Precursores da lenhina: 1) álcool p-cumarílico; 2) álcool coniferílico; 3) álcool sinapílico[10];

### 1.3 Processos de fabrico

Como já foi referido, a principal fonte de matéria-prima utilizada para o processo de fabrico de papel é actualmente a madeira. No entanto, são varias as plantas que podem ser e já foram utilizadas neste processo (algodão, bambu, cana-de-açúcar, linho, palha de trigo e canhamo). Apesar da existencia destas fontes, 95% do papel é fabricado a partir da madeira. Como referido anteriormente, a madeira contém celulose (38-50%), hemicelulose (20-35%) e lenhina (10-30%), sendo apenas a celulose necessária para a produção de papel. Portanto, o primeiro passo na produção de papel consiste na separação da celulose dos outros constituintes da madeira; desta separação resulta o produto a que chamamos polpa de madeira.

Existem vários métodos para a obtenção da polpa de madeira, mas os principais são: o método mecânico e o método químico. O método mecânico pode ser efectuado de várias maneiras mas na essência o método consiste em triturar ou cortar finamente a madeira de modo a separar as fibras de celulose de tudo o resto. O método consegue converter 90% ou mais da madeira em polpa. No entanto, a polpa obtida contém a maior parte da lenhina que a madeira tinha, originando fibras rígidas e pouco resistentes. O papel fabricado por estas fibras é de fraca qualidade e torna-se amarelo ou castanho quando exposto ao sol. A polpa obtida por este método é utilizada para o fabrico de jornais, embalagens e outras aplicações menos resistentes.

O principal método químico é conhecido como processo *kraft*, que trata a madeira com produtos químicos, calor e pressão de modo a dissolver a lenhina em água libertando a celulose. Este processo consegue remover em grande parte a lenhina e a hemicelulose presente na madeira. Este processo é o mais utilizado e origina papel resistente e de boa qualidade[11,12].

### 1.4 Degradação

Uma grande parte dos livros, manuscritos e outros documentos valiosos estão ameaçados de desintegração derivada da degradação da celulose de que são feitos o papel. Este é o maior problema que o património cultural derivado de celulose sofre. A degradação é motivada por determinados factores como a humidade,

temperatura, alteração dos constituintes do papel, exposição a atmosferas agressivas e por utilização de materiais como tinta, pigmentos e corantes [13].

De acordo com vários estudos efectuados sobre a degradação do papel, esta acontece por dois processos diferentes: hidrólise ácida e oxidação [14]. As propriedades do papel estão relacionadas com as suas características moleculares. Os polímeros constituintes do papel determinam as suas propriedades físicas como o brilho, a resistencia e a estabilidade polimérica. A hidrólise ácida da celulose e de outros polímeros presentes no papel (hemicelulose e lenhina), é a reacção predominante durante o envelhecimento. É induzida pela presença de água (humidade) e ácidos [6,14]. Como qualquer molécula polar, a celulose é sensível à oxidação, originando o segundo fenómeno que mais contribui para a sua degradação. Este fenómeno, é induzido pela presença de iões metálicos, ou simplesmente pela presença de ar e seus contaminantes durante longos períodos de tempo [6,14]. Estes dois processos causam uma degradação autocatalítica do papel levando-o a uma decomposição mais ou menos rápida [14].

## **1.5 Parâmetros Analíticos**

Devido à importância cultural da escrita, dos seus documentos e de objectos derivados que utilizam papel e celulose, a preservação e avaliação do estado de preservação do património é fundamental. Os principais parâmetros que têm sido utilizados são o pH e o grau de polimerização (DP) [14].

### **1.5.1 pH**

Na análise de papel e derivados de celulose, a durabilidade é um dos factores estudados e está directamente relacionado com o pH. Num ambiente ácido, a celulose sofre hidrólise ácida, enquanto que em ambientes alcalinos moderados, a celulose degrada-se principalmente por auto-oxidação. Este último processo é mais lento, tendo evidenciando que o papel produzido em meio moderadamente alcalino tem um tempo de vida superior ao papel produzido em meio ácido. Teme-se que o papel, ácido, produzido entre 1850 e 1990 não sobreviva mais um século [15].

Como técnica analítica têm sido utilizados sensores de pH tradicionais, como por exemplo o eléctrodo de pH. Este obriga ao uso de um meio aquoso, o que é inaceitável em objectos de valor histórico. De modo a minimizar o dano, a micro-amostragem é ocasionalmente permitida, tendo sido desenvolvidos micro sensores de pH que apenas necessitam de uma micrograma de fibras para a execução da análise. No entanto, os resultados obtidos por estas técnicas, nem sempre têm sido representativos da acidez e do estado de degradação/preservação do papel derivado de celulose, sendo difícil estabelecer uma correlação entre o valor do pH e o estado real de degradação do objecto [14].

### **1.5.2 Grau de Polimerização (DP)**

A característica que melhor avalia o estado de degradação de um material celulósico é o DP [14]. O DP mede o valor médio do tamanho do polímero de celulose, sendo um dos mais sensíveis indicadores de degradação. Têm sido determinado através da medição da viscosidade ou por cromatografia de exclusão molecular (SEC). Esta última, é uma técnica analítica recentemente aplicada na área do património cultural; permite avaliar a degradação dos polímeros celulósicos. No entanto, é também um método destrutivo, conseqüentemente não muito apropriado para a análise de objectos com elevado valor histórico [14].

### **1.5.3 Compostos orgânicos voláteis em materiais celulósicos**

Pensa-se que durante o processo natural de envelhecimento dos livros, os compostos orgânicos voláteis (VOC's) são emitidos lentamente e vão-se acumulando dentro dos livros. Os VOC's são produzidos por reacções de degradação de celulose, entre outras. Então, o caminho de degradação pode ter influência no perfil de VOC's de um papel degradado [15].

Está descrito que ácidos orgânicos de baixo peso molecular, como o ácido acético e o ácido fórmico podem advir da degradação da cadeia polissacárida; o furfural está descrito como um produto da hidrólise ácida da celulose (Figura 1.5) [15].

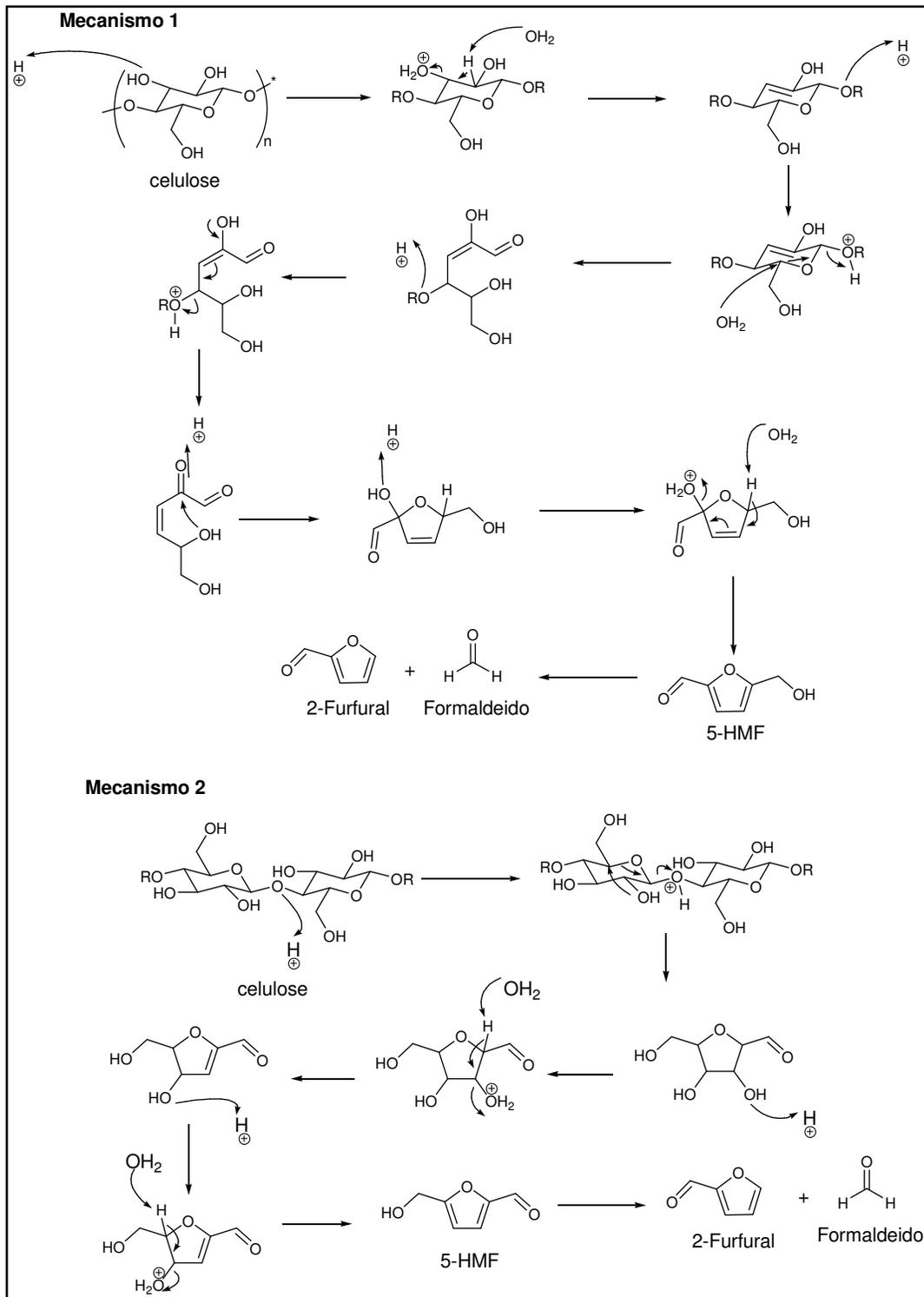


Figura 1.5 – Mecanismos (1 e 2) propostos para a formação de furfural e formáldeido a partir da hidrólise ácida da celulose[16].

Outros autores afirmam que o furfural é produto de degradação da hemicelulose (Figura 1.6) [8].

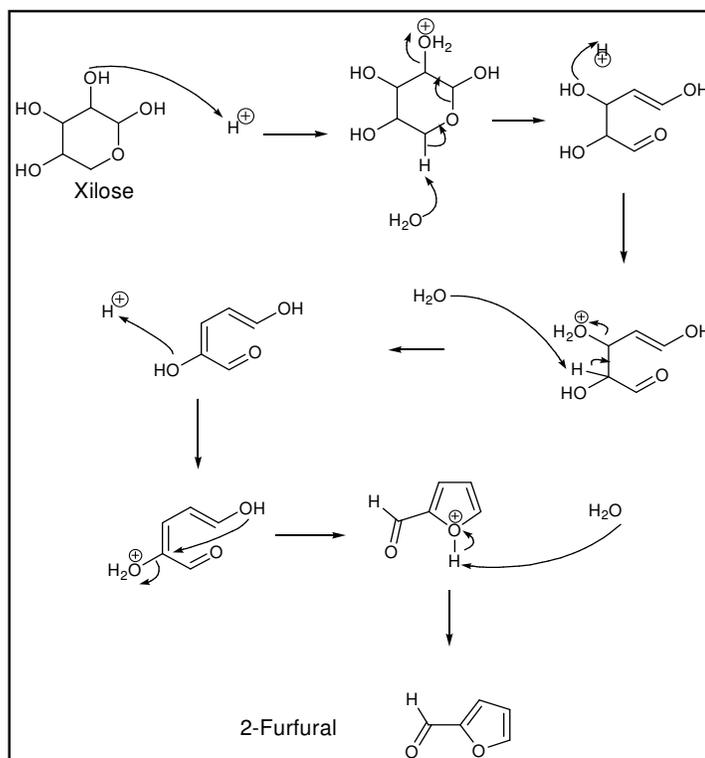


Figura 1.6 – Mecanismo de formação do furfural a partir da hemicelulose[8].

A vanilina(Figura 1.7) e o fenol estão descritos como marcadores voláteis de degradação da lenhina[17].

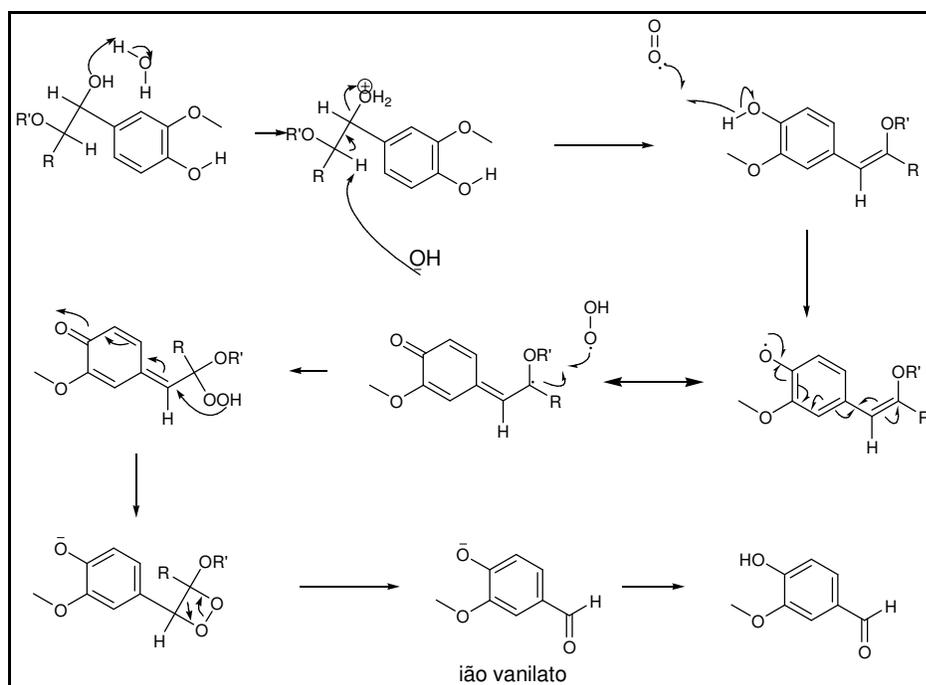


Figura 1.7 – Mecanismo de formação da vanilina [18].

O papel pode também actuar como absorvente, e assim assimilar compostos que estejam no ambiente. Está descrita a presença de VOC's, especialmente ácido acético, ácido fórmico e formáldeido na atmosfera de museus e efeito corrosivo que estes podem ter numa grande variedade de materiais, nomeadamente em livros. Portanto, a presença destes compostos em determinados livros pode ter proveniências diferentes, podendo ser produto de degradação celulósica ou serem compostos absorvidos de ambientes circundantes, podendo actuar como catalisadores de degradação celulósica.

## 1.6 Métodos Analíticos

### 1.6.1 Preparação de Amostra

A técnica de microextração em fase sólida (SPME) foi inventada em 1989 devido à necessidade de uma fácil e rápida preparação de amostra quer em laboratório quer no local de recolha da amostra [19]. Esta técnica envolve dois fenómenos: (i) a partilha dos analitos entre a fase extractora (fibra) e a matriz e (ii) dessorção do extracto concentrado, o qual é efectuado no instrumento de análise (Figura 1.8).

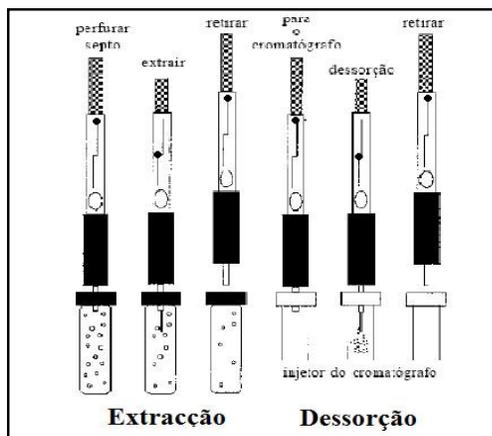


Figura 1.8 – SPME: Esquema dos dois passos fundamentais (i) extração e (ii) dessorção [20].

A SPME tem sido utilizada em combinação com a cromatografia gasosa (GC) e a cromatografia gasosa associada à espectrometria de massa (GC-MS). É usada na

análise de uma variedade de compostos, mas especialmente para a extracção de compostos orgânicos voláteis e semi-voláteis de matrizes complexas [19]. A sua utilização está também descrita em combinação com cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) e cromatografia líquida associada à espectrometria de massa (LC-MS) para a análise de compostos pouco voláteis ou termicamente instáveis não adequados à análise por GC ou GC-MS. A técnica tem sido aplicada na determinação de compostos orgânicos em amostras gasosas, líquidas e sólidas. É uma técnica simples que não necessita de usar solventes e permite a extracção e concentração de amostra num passo único reduzindo o tempo de preparação de amostra [21]. Por estas razões, o número de aplicações de SPME em análises alimentares, ambientais e bioanalíticas é cada vez mais vasto [21]; começou a ser utilizada também na área do património cultural [14,15].

A selecção da fibra é primeiro passo para o desenvolvimento de método que envolva SPME. O tipo de fibra é seleccionado de acordo com as propriedades dos analitos. A mais usada é de polidimetilsiloxano (PDMS), fibra considerada apolar, e é particularmente utilizada para a análise de compostos apolares. A fibra de poliacrilato (PA) é muito polar e é descrita como sendo ideal para a análise de fenóis. Estão também disponíveis as fibras de carboxeno/polidimetilsiloxano (CAR/PDMS), divinilbenzeno/carboxeno/polidimetilsiloxano (DVB/CAR/PDMS), e carboxeno/polietileno glicol (PEG). CAR/PDMS tem sido a mais utilizada na análise de compostos voláteis, PEG é referenciada para compostos polares, especialmente álcoois, e finalmente a DVB/CAR/PDMS tem sido utilizada com compostos de várias polaridades [19]. Outros factores que têm de ser levados em consideração são o passo de extracção e o passo de dessorção. No passo de extracção é importante o tempo de extracção, a força iónica, o pH, a temperatura, o efeito de matriz, o volume de amostra, a posição da fibra e a agitação. No passo de dessorção são relevantes a temperatura, o tempo de dessorção e a temperatura (do forno se associada a GC).

Dois procedimentos diferentes de extracção podem ser utilizados: *headspace* SPME (HS-SPME) e SPME de contacto. No HS-SPME faz-se a sorção dos analitos com uma fibra colocada no espaço à cabeça da amostra, havendo partilha dos analitos entre a matriz e a fibra. Para o estudo dos VOC's de objectos históricos, nomeadamente livros, o HS-SPME pode não ser o mais adequado se requerer a destruição da amostra. O procedimento SPME de contacto é totalmente não destrutivo e consiste na colocação da fibra (inserida num suporte) entre duas páginas aleatórias de um livro e mante-lo fechado [22].

## **1.6.2 Métodos Cromatográficos**

### **1.6.2.1 Análise de VOC's**

Vários métodos foram sendo utilizados de modo a encontrar-se uma ligação entre o decaimento da força mecânica do papel e as características macromoleculares da celulose [3]. A SEC, permite a caracterização das macromoléculas poliméricas sendo uma ferramenta importante na avaliação da degradação da celulose; contudo, como já mencionado, é uma técnica destrutiva da amostra. As primeiras metodologias utilizadas para a análise de VOC's usaram GC associada ao olfacto (GC sniffing) e GC-MS; permitiram a identificação de muitos compostos voláteis em livros antigos [14]. Está publicada a análise de sub-produtos da degradação celulósica do papel utilizando cromatografia líquida (LC) e SPME acoplada a GC-MS. Esta última, foi utilizada no estudo de compostos voláteis emitidos de objectos em museus e também para o diagnóstico de voláteis emitidos pelos materiais de construção usados para exibição e armazenamento de objectos [14]. Outra técnica já utilizada é a electroforese capilar (CZE) com detecção com fotodiodos (DAD) a qual permitiu a caracterização dos compostos formados durante a degradação da celulose, hemicelulose e lenhina [3].

## **2. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

## **2. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **2.1 Objectivos**

Este trabalho teve como principal objectivo o desenvolvimento de uma nova metodologia analítica, não destrutiva, para a detecção e identificação de compostos orgânicos voláteis emitidos por documentos feitos de material celulósico, potenciais marcadores do tipo de material e estado de preservação dos objectos.

O método utiliza a micro-extracção em fase sólida associada à cromatografia gasosa e espectrometria de massa ( HS-SPME-GC/MS) e foi aplicado a várias amostras de dois tipos de matrizes diferentes: livros antigos feitos a partir de celulose de algodão e livros antigos feitos a partir de polpa de madeira. Outros objectivos foram a determinação de potenciais marcadores do tipo de matriz assim como a determinação de potenciais marcadores de envelhecimento e/ou degradação precoce.

### **2.2 Desenvolvimento de método HS-SPME-GC/MS**

#### **2.2.1 Escolha de fibra**

Quando se inicia o desenvolvimento de uma nova metodologia utilizando a SPME, o passo fundamental é a escolha da fibra de SPME a utilizar. Como referi na secção 1.6.1, cada fibra tem as suas propriedades e portanto fibras diferentes podem mostrar selectividades diferentes para cada tipo de compostos. Há que ter também em consideração factores como a polaridade dos compostos alvo, a temperatura e o tempo de extracção.

Foram testadas quatro fibras diferentes: PDMS, CW/DVB, CAR/PDMS e a DVB/CAR/PDMS. Cada uma das fibras foi testada nos dois tipos de matrizes diferentes a estudar (livros de celulose de algodão e livros de polpa de madeira).

A primeira fibra a ser testada foi a CW/DVB; a figura 2.1 mostra o perfil cromatográfico obtido para as duas matrizes.

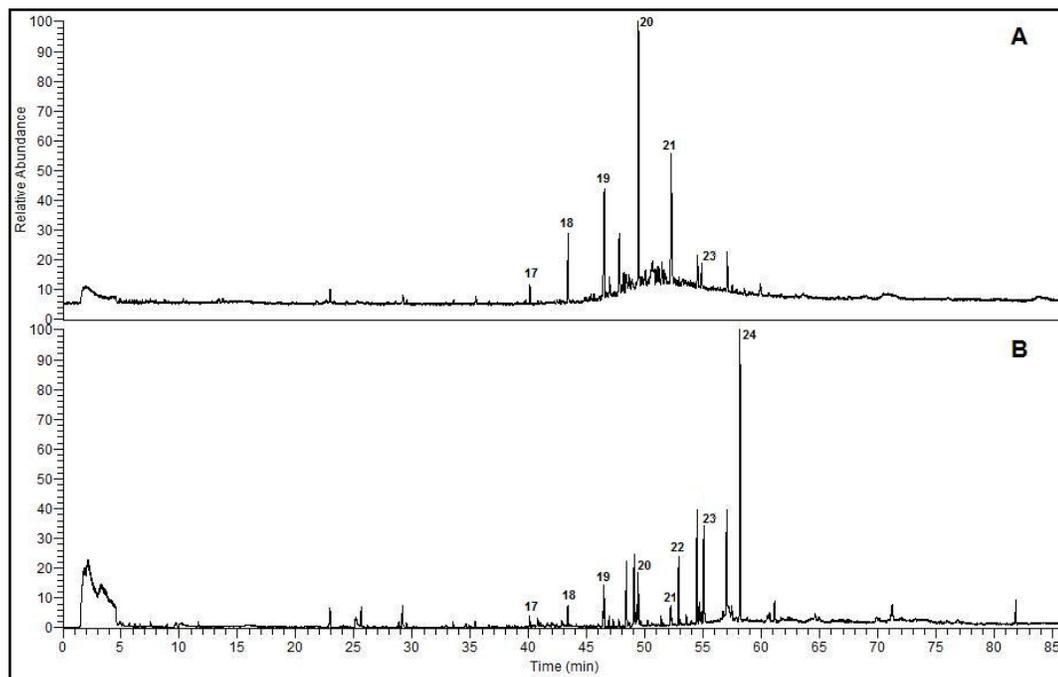


Figura 2.1 – Análise cromatográfica de livros antigos. A – HS-SPME(CW-DVB)-GC/MS livro de celulose de polpa de madeira, B - HS-SPME(CW-DVB)-GC/MS livro de celulose de algodão. **17** – tetradecano ( $C_{14}H_{30}$ ); **18** – pentadecano ( $C_{15}H_{32}$ ); **19** – hexadecano ( $C_{16}H_{34}$ ); **20** – heptadecano ( $C_{17}H_{36}$ ); **21** – octadecano ( $C_{18}H_{38}$ ); **22** – isopropil miristato ( $C_{17}H_{34}O_2$ ); **23** – nonadecano ( $C_{19}H_{40}$ ); **24** – isopropil palmitato ( $C_{19}H_{38}O_2$ ). Coluna BPX5 30 m x 0,25 mm x 1  $\mu$ m. Condições experimentais descritas na secção 4.

Pode verificar-se que os perfis são bastante distintos, podendo a fibra ser considerada uma boa fibra para a identificação de potenciais marcadores químicos. Verificou-se que a maioria dos compostos maioritários correspondem a hidrocarbonetos de cadeia linear, nomeadamente de  $C_{13}H_{28}$  a  $C_{19}H_{40}$ , pelo que se resolveu testar também a fibra PDMS uma vez que esta já foi utilizada no laboratório para a análise de hidrocarbonetos [23].

Para a análise de compostos de baixa polaridade (hidrocarbonetos) confirmou-se que a fibra que mais se adequa é a PDMS. A Figura 2.2 mostra o perfil

cromatográfico para as duas matrizes já anteriormente analisadas utilizando a fibra PDMS.

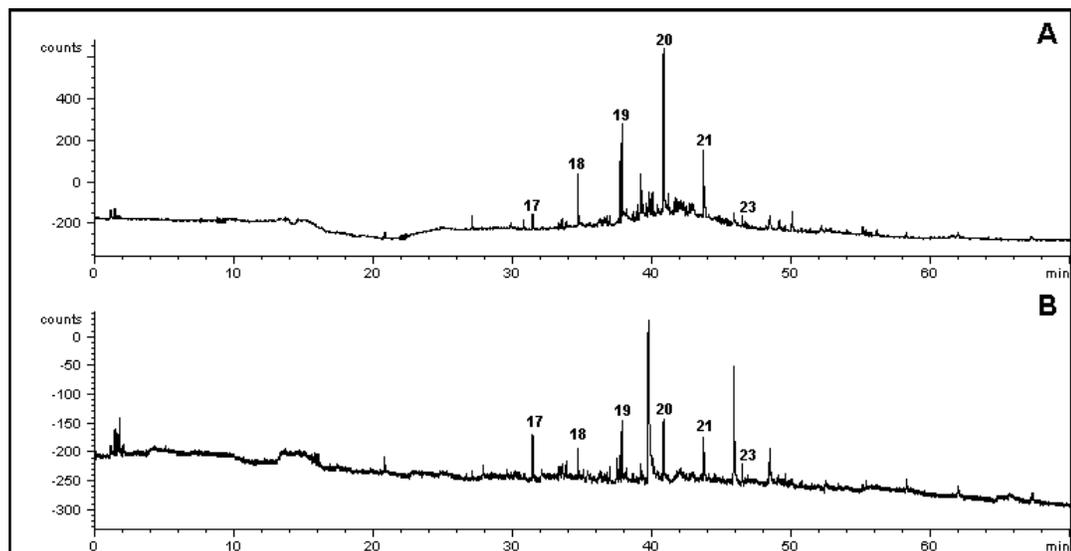


Figura 2.2 – Análise cromatográfica de livros antigos. A – HS-SPME(PDMS)-GC/FID livro de celulose de polpa de madeira, B - HS-SPME(PDMS)-GC/FID livro de celulose de algodão. **17** – tetradecano ( $C_{14}H_{30}$ ); **18** – pentadecano ( $C_{15}H_{32}$ ); **19** – hexadecano ( $C_{16}H_{34}$ ); **20** – heptadecano ( $C_{17}H_{36}$ ); **21** – octadecano ( $C_{18}H_{38}$ ); **23** – nonadecano ( $C_{19}H_{40}$ ). Coluna BPX5 30 m x 0,25 mm x 0,25  $\mu$ m. Condições experimentais descritas na secção 4.

Pode verificar-se que a fibra PDMS é bastante adequada para compostos de baixa polaridade, nomeadamente hidrocarbonetos.

Tendo por objectivo a análise de compostos com outras funcionalidades químicas potencialmente presentes, resolveu-se testar duas fibras mais polares (CAR/PDMS e DVB/CAR/PDMS).

A fibra CAR/PDMS tem sido muito descrita como ideal para a análise de compostos voláteis de baixo peso molecular [19]. A Figura 2.3 ilustra o perfil cromatográfico para as duas matrizes, anteriormente analisadas, utilizando esta fibra.

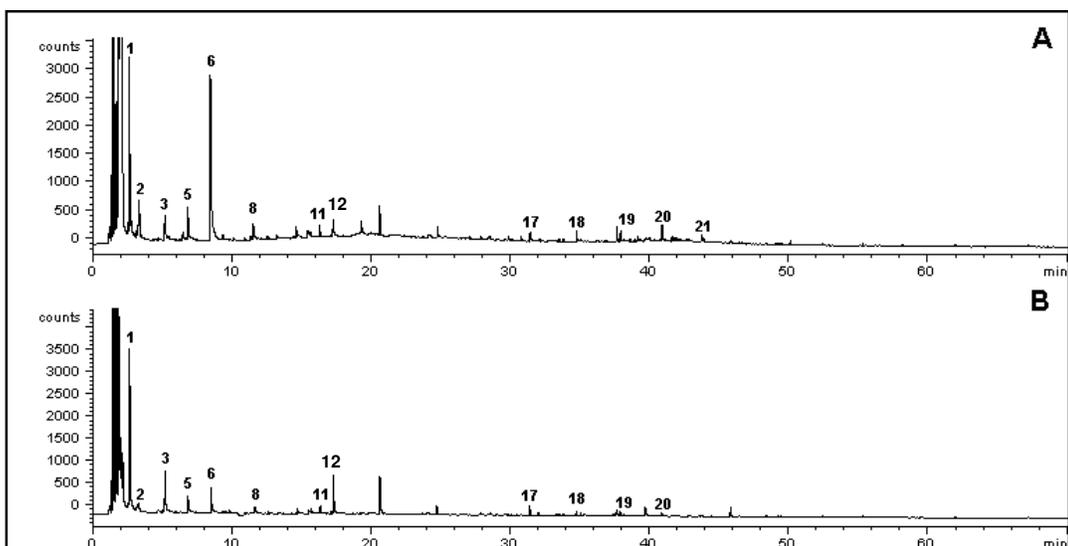


Figura 2.3 – Análise cromatográfica de livros antigos. A – HS-SPME(CAR/PDMS)-GC/FID livro de celulose de polpa de madeira, B - HS-SPME(CAR/PDMS)-GC/FID livro de celulose de algodão. **1** – 1-butanol ( $C_4H_{10}O$ ); **2** – ácido acético ( $C_2H_4O_2$ ); **3** – tolueno ( $C_7H_8$ ); **5** – hexanal ( $C_6H_{12}O$ ); **6** – 2-furfural ( $C_5H_4O_2$ ); **8** – heptanal ( $C_7H_{14}O$ ); **11** – octanal ( $C_8H_{16}O$ ); **12** – 2-etil-1-hexanol ( $C_8H_{18}O$ ); **17** – tetradecano ( $C_{14}H_{30}$ ); **18** – pentadecano ( $C_{15}H_{32}$ ); **19** – hexadecano ( $C_{16}H_{34}$ ); **20** – heptadecano ( $C_{17}H_{36}$ ); **21** – octadecano ( $C_{18}H_{38}$ ). Coluna BPX5 30 m x 0,25 mm x 0,25  $\mu$ m. Condições experimentais descritas na secção 4.

Esta fibra apesar de mostrar menos selectividade para os hidrocarbonetos, mostrou ser bastante adequada na análise de outros compostos, mais voláteis, mostrando um perfil de compostos voláteis diferente do anteriormente obtido. Observaram-se vários compostos nos primeiros 20 minutos do cromatograma, o que não aconteceu com as outras duas fibras testadas.

Por último, testou-se a fibra DVB/CAR/PDMS que está descrita como sendo uma fibra que sorve uma grande variedade de compostos [19]. A Figura 2.4 mostra o perfil cromatográfico das duas matrizes em análise usando esta fibra tripla.

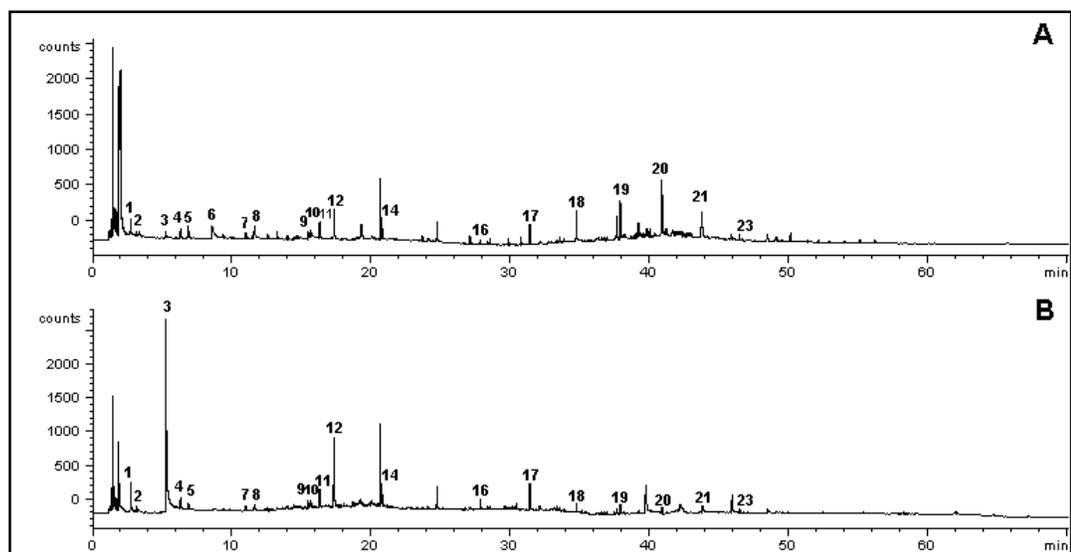


Figura 2.4 – Análise de cromatogramas de livros antigos. A – HS-SPME(DVB/CAR/PDMS)-GC/FID livro de celulose de polpa de madeira, B - HS-SPME(DVB/CAR/PDMS)-GC/FID livro de celulose de algodão. **1** – 1-butanol ( $C_4H_{10}O$ ); **2** – ácido acético ( $C_2H_4O_2$ ); **3** – tolueno ( $C_7H_8$ ); **4** – octano ( $C_8H_{18}$ ); **5** – hexanal ( $C_6H_{12}O$ ); **6** – 2-furfural ( $C_5H_4O_2$ ); **7** – nonano ( $C_9H_{20}$ ); **8** – heptanal ( $C_7H_{14}O$ ); **9** – fenol ( $C_6H_6O$ ); **10** – decano ( $C_{10}H_{22}$ ); **11** – octanal ( $C_8H_{16}O$ ); **12** – 2-etil-1-hexanol ( $C_8H_{18}O$ ); **14** – nonanal ( $C_9H_{18}O$ ); **16** – tridecano ( $C_{13}H_{28}$ ); **17** – tetradecano ( $C_{14}H_{30}$ ); **18** – pentadecano ( $C_{15}H_{32}$ ); **19** – hexadecano ( $C_{16}H_{34}$ ); **20** – heptadecano ( $C_{17}H_{36}$ ); **21** – octadecano ( $C_{18}H_{38}$ ). Coluna BPX5 30 m x 0,25 mm x 0,25  $\mu$ m. Condições experimentais descritas na secção 4.

Esta fibra mostrou-se capaz de reter uma maior variedade de classes de compostos, mostrou selectividade para os compostos mais voláteis de baixo peso molecular e ao mesmo tempo retém compostos de baixa polaridade como os hidrocarbonetos, sendo portanto a fibra que mais variedade de compostos sorve e que melhor se adequa ao estudo dos VOCs emitidos pelos livros.

### 2.2.2 Determinação do tempo de extracção

Para além do estudo do tipo de fibra foi realizado o estudo do tempo de extracção de modo a verificar-se a reprodutibilidade das áreas dos compostos analisados com as diferentes fibras testadas. Foram testados vários tempos de exposição da fibra.

Para a fibra CW/DVB testaram-se os tempos de 30, 60, 120 e 240 minutos, verificando-se reprodutibilidade nas análises a partir dos 120 minutos de exposição (Figura 2.5). Para a fibra DVB/CAR/PDMS foram testados os tempos de 30, 60, 120, 240 e 1080 minutos, verificando-se reprodutibilidade a partir dos 240 minutos de exposição da fibra (Figura 2.6). Para a fibra PDMS e CAR/PDMS os resultados foram idênticos aos obtidos para a fibra tripla.

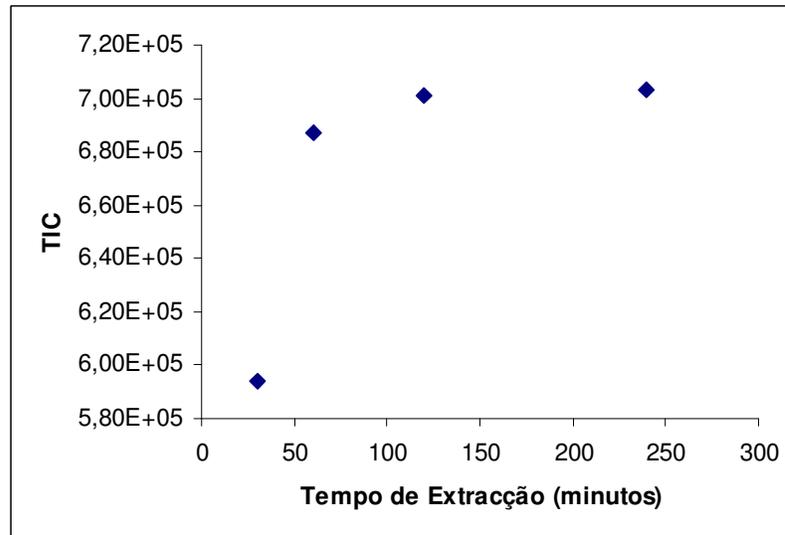


Figura 2.5 – Gráfico representativo do estudo do tempo de exposição da fibra CW/DVB: em abcissas mostra-se a corrente iônica total.

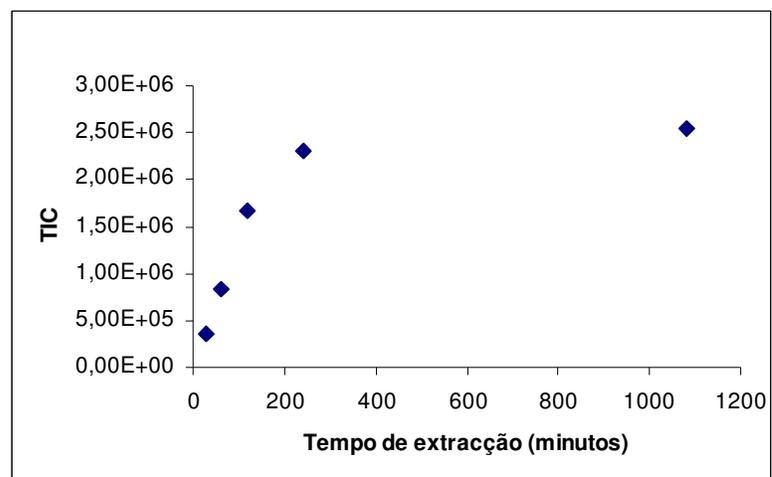


Figura 2.6 – Gráfico representativo do estudo do tempo de exposição da fibra DVB/CAR/PDMS: em abcissas mostra-se a corrente iônica total.

### 2.2.3 Análise de VOC's

Com o objectivo de identificar e confirmar a identificação dos compostos, foram analisados padrões de compostos, de modo a determinar os seus tempos de retenção em GC-FID (tabela 2.1).

Tabela 2.1 – Tempos de retenção de padrões de alguns compostos analisados por GC-FID, coluna BPX5 30m x 0.25mm x 0,25 µm. Condições experimentais descritas na secção 4.

Nº	Composto	Tempo de retenção (min.)
1	1-butanol	2.67
2	Ácido acético	3.11
3	Tolueno	5.28
4	C <sub>8</sub> H <sub>18</sub>	6.32
5	Hexanal	6.80
6	2-Furfural	8.52
7	C <sub>9</sub> H <sub>20</sub>	10.99
8	Heptanal	11.56
9	Fenol	15.49
10	C <sub>10</sub> H <sub>22</sub>	15.67
11	Octanal	16.24
12	2-etil-1-hexanol	17.81
13	C <sub>11</sub> H <sub>24</sub>	20.04
14	Nonanal	20.85
15	C <sub>12</sub> H <sub>26</sub>	24.09
16	C <sub>13</sub> H <sub>28</sub>	27.87
17	C <sub>14</sub> H <sub>30</sub>	31.41
18	C <sub>15</sub> H <sub>32</sub>	34.75
19	C <sub>16</sub> H <sub>34</sub>	37.91
20	C <sub>17</sub> H <sub>36</sub>	40.90
21	C <sub>18</sub> H <sub>38</sub>	43.75
22	Isopropil miristato	44.52
23	C <sub>19</sub> H <sub>40</sub>	46.45
24	Isopropil palmitato	49.74

Dos compostos descritos na tabela 2.1, o isopropil miristato (**22**) e o isopropil palmitato (**24**) foram sintetizados no laboratório. Para a sua síntese, procedeu-se a uma esterificação em meio ácido. Fez-se reagir ácido mirístico e ácido palmítico com álcool isopropílico em excesso na presença de ácido clorídrico concentrado (uma gota), a reacção foi efectuada a uma temperatura de aproximadamente 90°C durante 1 hora. A Figura 2.7 ilustra o mecanismo reaccional desta esterificação.

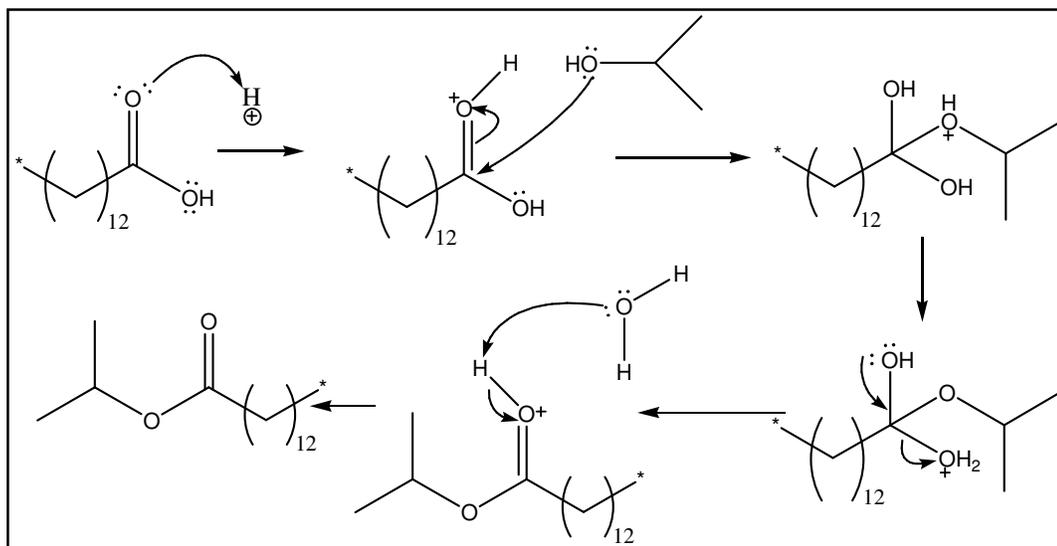


Figura 2.7 – Esquema reaccional da síntese utilizada para a preparação dos padrões dos ésteres isopropil miristato e isopropil palmitato.

## 2.2.4 Análise quiral

Foi igualmente efectuada análise quiral, utilizando GC-FID e uma coluna quiral de um derivado de ciclodextrina.

Foram analisados os compostos: 2-etil-hexanoato de metilo (mistura racémica), ácido 2-metil-butírico (mistura racémica), ácido (S)-(+)-2-metil-butírico, 2-metil-butanoato de metilo (mistura racémica), o 2-etil 1-hexanol (mistura racémica) e o (+) e o (-)-limoneno. As condições foram optimizadas de modo a conseguir-se uma boa separação cromatográfica (quiral) dos enantiómeros, como mostra a Figura 2.8 para a mistura racémica do ácido 2-metil-butírico.

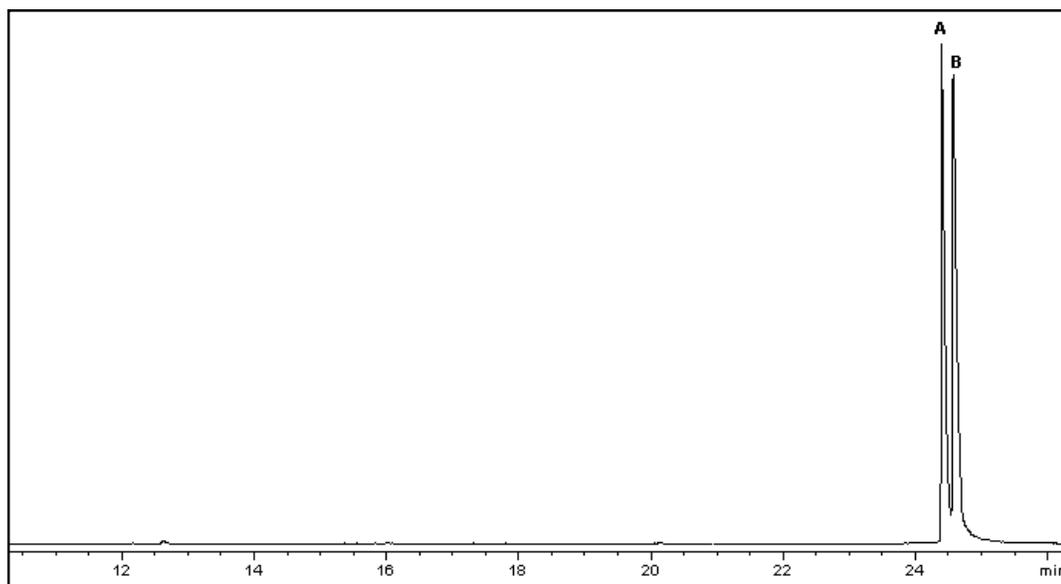


Figura 2.8 – Análise quiral do ácido 2-metil-butírico por GC-FID. A – (*R*)-2-metil-butírico; B – (*S*)-2-metil-butírico. Coluna Cyclosilb 30 m x 0.25 mm x 0.25  $\mu$ m. Condições experimentais descritas na secção 4.

Os enantiómeros *R* e *S* do ácido 2-metil-butírico e dos respectivos ésteres metílicos das misturas racémicas foram identificados por comparação com os tempos de retenção dos padrões do ácido (*S*)-(+)-2-metil-butírico e do seu respectivo éster metílico, o (*S*)-2-metil-butanoato de metilo. A identificação enantiomérica do (*R*)-2-etil-hexanoato de metilo, do (*S*)-2-etil-hexanoato de metilo, do (*R*)-2-etil-1-hexanol e do (*S*)-2-etil-1-hexanol foi efectuada a partir dos tempos de retenção obtidos para os enantiómeros do éster 2-metil-butanoato de metilo, uma vez que as diferenças estruturais são o número de carbonos na cadeia principal. Na Tabela 2.2 estão apresentados os tempos de retenção dos enantiómeros.

Tabela 2.2 – Análise quiral por GC-FID de compostos padrão. coluna Cyclosilb 30m x 0.25mm x 0.25 µm. Condições experimentais descritas na secção 4.

<b>Composto</b>	<b>Tempo de Retenção (min.)</b>
( <i>R</i> )-2-metil-butanoato de metilo	8.87
( <i>S</i> )-2-metil-butanoato de metilo	9.24
( <i>R</i> )-2-etil-hexanoato de metilo	19.99
( <i>S</i> )-2-etil-hexanoato de metilo	20.10
(-)-limoneno	20.02
(+)-limoneno	20.47
Ácido ( <i>R</i> )-2-metil-butírico	24.30
Ácido ( <i>S</i> )-2-metil-butírico	24.46
( <i>R</i> )-2-etil,1-hexanol	24.69
( <i>S</i> )-2-etil,1-hexanol	24.95

Os ésteres metílicos foram sintetizados a partir dos respectivos ácidos carboxílicos. Fez-se reagir os ácidos carboxílicos com uma solução etérea de diazometano. O ácido foi colocado num vial de fundo cónico, de modo a limitar as perdas por volatilização, e adicionou-se uma gota de metanol e a solução de diazometano até que a mistura fique com uma cor amarelada, sinal de que há excesso de diazometano e todo o ácido foi metilado. Durante a reacção há libertação de azoto. A Figura 2.9 ilustra o mecanismo reaccional envolvendo metilação de ácidos com diazometano.

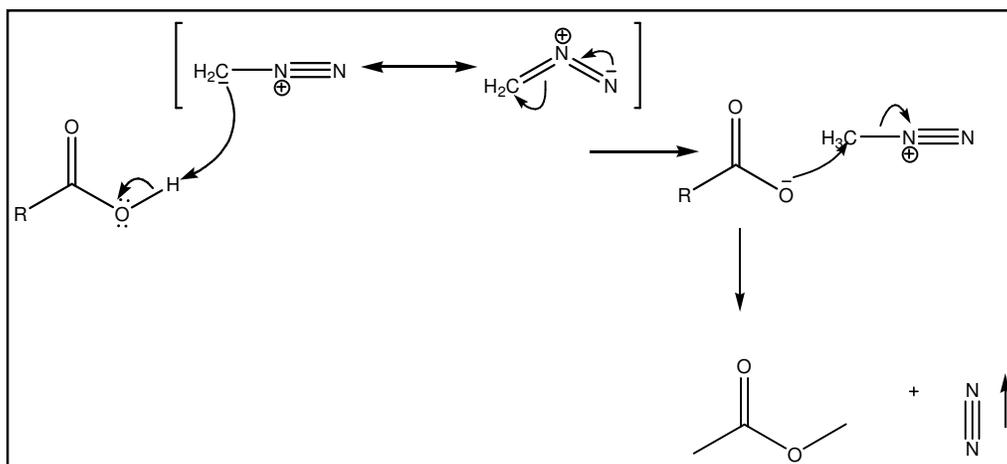


Figura 2.9 – Esquema reaccional da metilação de ácidos carboxílicos utilizando diazometano.

### 2.3 Análise de compostos voláteis de livros

O método HS-SPME-GC-MS desenvolvido foi aplicado à análise dos componentes voláteis emitidos por vários livros antigos, tendo sido identificados um total de 22 compostos. A sua identidade foi confirmada pela injeção de padrões e análise do espectro de massa obtido nas mesmas condições experimentais. Estes compostos foram identificados recorrendo à utilização de 4 fibras de SPME diferentes (CW/DVB, PDMS, CAR/PDMS, DVB/CAR/PDMS) descritas na secção 2, Figuras 2.1, 2.2, 2.3 e 2.4. As tabelas 2.3 e 2.4 enumeram os compostos identificados em cada um dos dois tipos de matrizes, utilizando as diferentes fibras.

Tabela 2.3 – Compostos voláteis identificados em livros antigos feitos de celulose de madeira por HS-SPME-GC-MS. Coluna BPX5 30 m x 0,25 mm x 1 µm. Condições experimentais descritas na secção 4.

	CW/DVB	PDMS	CAR/PDMS	DVB/CAR/PDMS
1-butanol	-	-	+	+
Ácido acético	-	-	+	+
Tolueno	-	-	+	+
Octano	-	-	-	+
Hexanal	-	-	+	+
2-furfural	-	-	+	+
Nonano	-	-	-	+
Heptanal	-	-	+	+
Fenol	-	-	-	+
Decano	-	-	-	+
Octanal	-	-	+	+
2-etil 1-hexanol	-	-	+	+
Nonanal	-	-	-	+
Tridecano	+	+	-	+
Tetradecano	+	+	+	+
Pentadecano	+	+	+	+
Hexadecano	+	+	+	+
Heptadecano	+	+	+	+
Octadecano	+	+	+	+
Isopropil miristato	-	-	-	-
Nonadecano	+	+	-	+
Isopropil palmitato	-	-	-	-

Tabela 2.4 – Compostos voláteis identificados em livros antigos feitos de celulose de algodão por HS-SPME-GC-MS. Coluna BPX5 30 m x 0,25 mm x 1 µm. Condições experimentais descritas na secção 4.

	CW/DVB	PDMS	CAR/PDMS	DVB/CAR/PDMS
1-butanol	-	-	+	+
Ácido acético	-	-	+	+
Tolueno	-	-	+	+
Octano	-	-	-	+
Hexanal	-	-	+	+
2-furfural	-	-	+	-
Nonano	-	-	-	+
Heptanal	-	-	+	+
Fenol	-	-	-	+
Decano	-	-	-	+
Octanal	-	-	+	+
2-etil 1-hexanol	-	-	+	+
Nonanal	-	-	-	+
Tridecano	+	+	-	+
Tetradecano	+	+	+	+
Pentadecano	+	+	+	+
Hexadecano	+	+	+	+
Heptadecano	+	+	+	+
Octadecano	+	+	-	+
Isopropil miristato	+	-	-	-
Nonadecano	+	+	-	+
Isopropil palmitato	+	-	-	-

A análise detalhada dos compostos identificados permitiu verificar a presença de ácido acético e 2-furfural. Estes compostos estão descritos como produtos de degradação celulósica [15]. O ácido fórmico, também já descrito como produto de degradação celulósica [15] não foi detectado.

O fenol foi já descrito como produto de degradação da lenhina [17];, contudo, foi identificado em livros antigos feitos de celulose de algodão e nos livros antigos feitos a partir de celulose de madeira. Este resultado questiona a origem do fenol porque a lenhina apenas se encontra descrita como constituinte da polpa de madeira. A vanilina foi também já descrita como produto de degradação da lenhina [17]; contudo, utilizando o método analítico e as condições experimentais descritas na secção 4, não foi detectada.

Comparando os perfis e composição dos dois tipos de matriz (celulose de algodão e celulose de madeira), os compostos voláteis identificados são na sua maioria os mesmos. De realçar a presença de várias famílias químicas: ácidos (ácido acético), aldeídos (hexanal, heptanal, octanal e nonanal), álcoois (1-butanol e 2-etil 1-hexanol), derivados benzénicos (tolueno e fenol) e hidrocarbonetos ( $C_8H_{18}$  a  $C_{10}H_{22}$  e  $C_{13}H_{28}$  a  $C_{19}H_{40}$ ). Sendo estes compostos comuns aos dois tipos de matriz podemos estar perante compostos que são derivados naturais da celulose, sendo emitidos durante o processo de degradação subjacente ao envelhecimento; realce-se que os livros estudados são obras datadas de 1600 a 1950.

### **2.3.1 2-Furfural nos livros**

Como foi mencionado anteriormente, o composto 2-furfural (2-F) foi descrito como produto de degradação da celulose [15] (o seu espectro de massa e estrutura química estão apresentados na Figura 2.10). Considerando que o algodão contém cerca de 90% de celulose e a madeira entre 38 e 50% é espectável que este componente esteja presente nos dois tipos de matriz (livros de celulose de algodão e livros de celulose de madeira). Numa primeira análise, e usando a fibra tripla (DVB/CAR/PDMS), o 2-F apenas foi identificado nos livros de celulose de madeira, não tendo sido detectado nos livros de celulose de algodão, conforme mostrado nas Figuras 2.11 e 2.12.

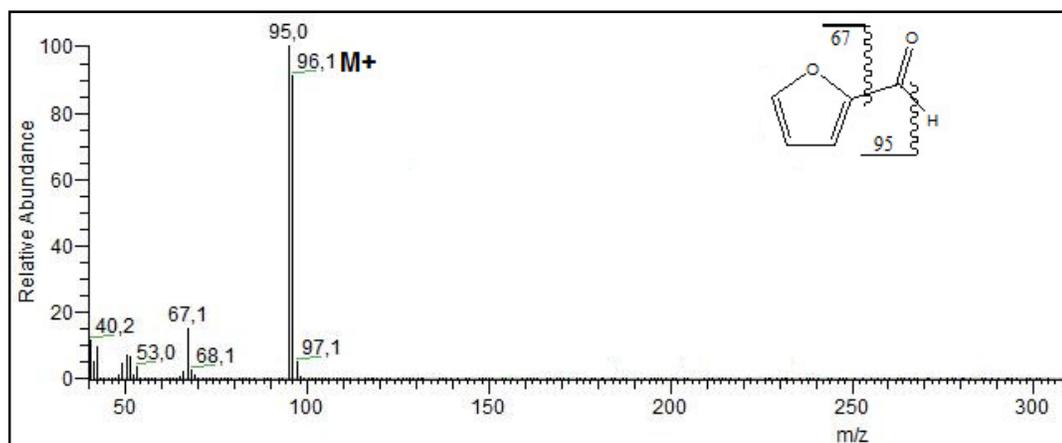


Figura 2.10 – Espectro de massa do 2-furfural ( $C_5H_4O_2$ ). Análise efectuada por HS-SPME-GC/MS em modo de impacto electrónico positivo (EI+). Coluna BPX5 30 m x 0.25 mm x 1  $\mu$ m. Condições experimentais descritas na secção 4.

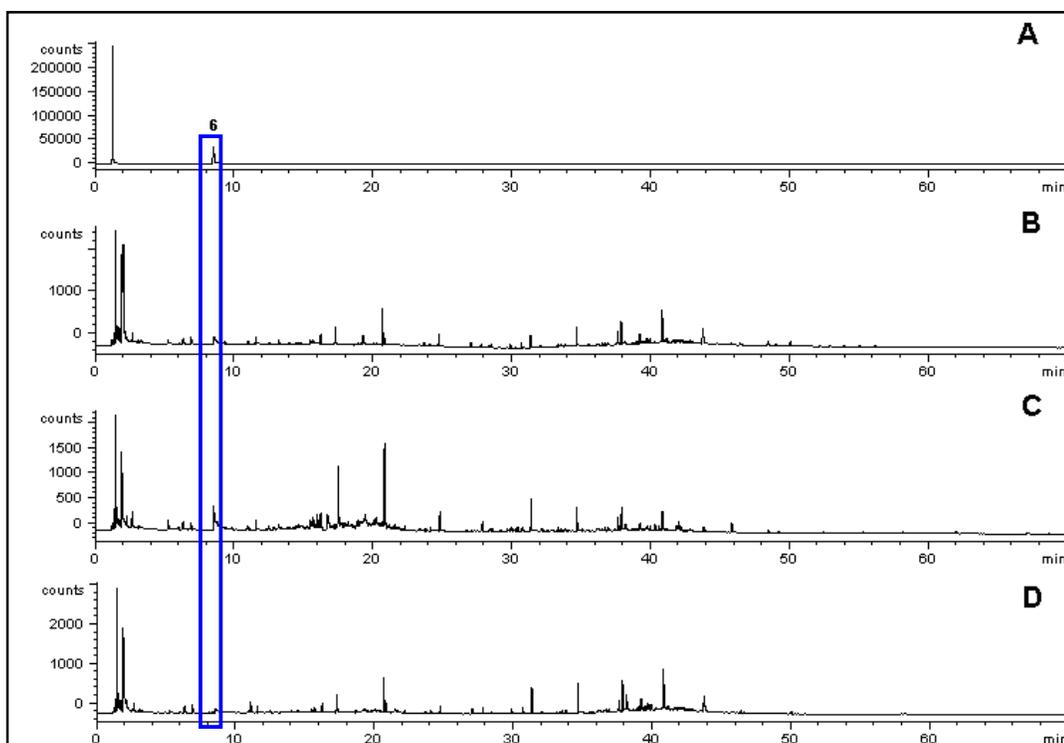


Figura 2.11 – Análise cromatográfica de livros antigos feitos de celulose de madeira por HS-SPME(DVB/CAR/PDMS)-GC/FID. A – padrão do 2-furfural (6); B – Livro do ano 1930 (A selva) bom estado de conservação; C – Livro do ano 1927 (The sign of silence) degradado; D - Livro de 1941 (O primo Basílio) bom estado de

conservação. Coluna BPX5 30 m x 0.25 mm x 0,25 µm. Condições experimentais descritas na secção 4.

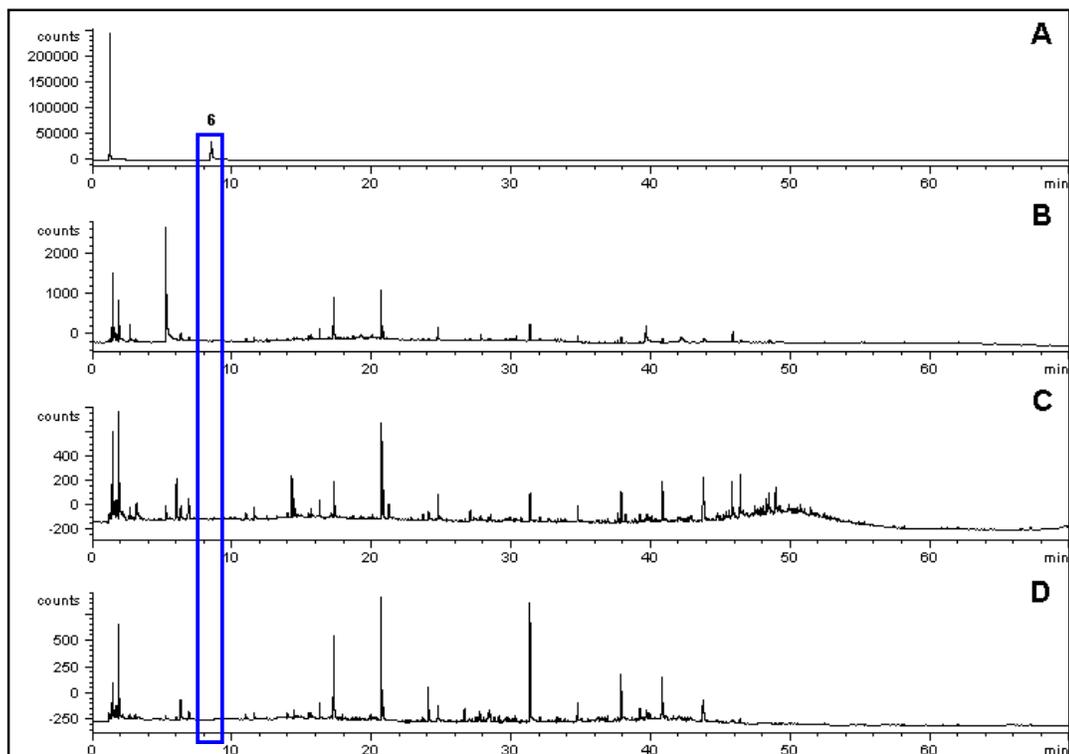


Figura 2.12 – Análise cromatográfica de livros antigos feitos de celulose de algodão por HS-SPME(DVB/CAR/PDMS)-GC/FID. A – padrão do 2-furfural (6); B – Livro do ano 1776, bom estado de conservação; C – Livro do ano 1708, bom estado de conservação; D - Livro de 1697, degradado. Coluna BPX5 30 m x 0.25 mm x 0,25 µm. Condições experimentais apresentadas na secção 4.

Observando atentamente a figura 2.11, constata-se que o 2-F aparece em maior quantidade no livro mais degradado (Figura 2.11-C) do que nos livros em bom estado de conservação (figura 2.11-B e D).

No entanto, o composto 2-F foi detectado nos livros de celulose de algodão (em pequena quantidade) usando outra fibra (CAR/PDMS), conforme consta da tabela 2.4. Há assim a indicação de que a fibra CAR/PDMS mostrou afinidade especial para o 2-F como mostra a Figura 2.13 (foi possível detectar quantidades inferiores quando comparada com a fibra tripla).

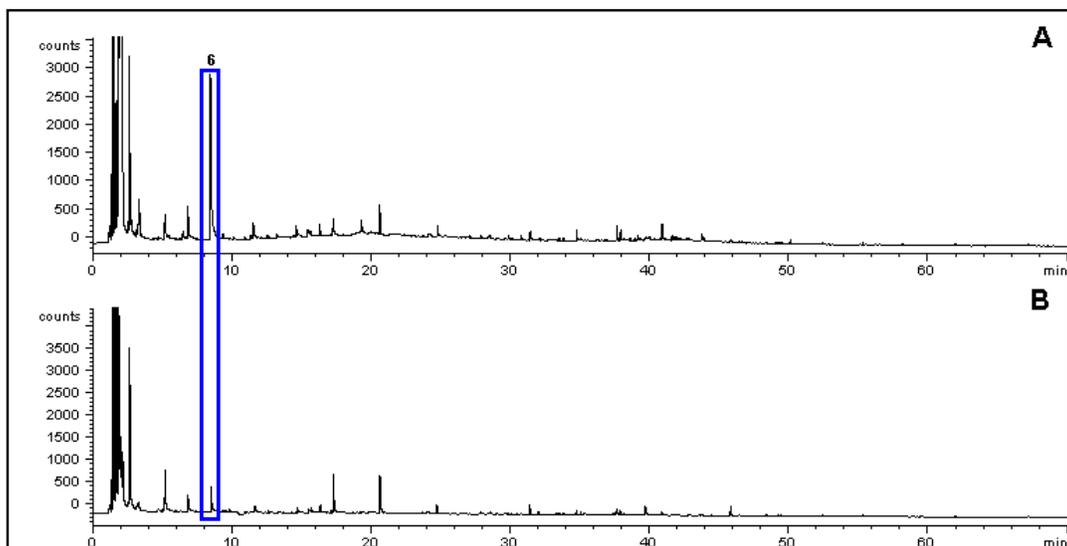


Figura 2.13 – Análise cromatográfica de livros antigos por HS-SPME(CAR/PDMS)-GC/FID. **6** – 2-furfural; A – Livro do ano 1930 (A selva) bom estado de conservação; B – Livro do ano 1776, bom estado de conservação. Coluna BPX5 30 m x 0.25 mm x 0,25 µm. Condições experimentais descritas na secção 4.

Apesar do 2-F ser detectado nos dois tipos de livros, a presença deste é quantitativamente muito superior nos livros de celulose de madeira do que nos livros de celulose de algodão. Portanto a não identificação de 2-F nos livros de celulose de algodão com a fibra tripla é explicável: possuindo esta menor selectividade para este composto, a quantidade é insuficiente para ser detectada com esta fibra utilizando o método desenvolvido.

Uma explicação possível para a diferença de quantidades de 2-F nos dois tipos de matriz pode ser o arranjo estrutural da celulose no algodão, que é muito diferente do existente nas fibras de madeira. Apesar de ambas as matrizes serem constituídas maioritariamente por celulose, no algodão as fibras são compostas por vinte a trinta camadas de celulose concedendo-lhe propriedades únicas como força e resistência, originando então um papel mais resistente à degradação. O papel oriundo da madeira é mais susceptível à degradação devido à presença de outros polímeros (hemicelulose e lenhina) e à presença de ácidos, que podem perfazer 40% da constituição das fibras de madeira [4,24,25,26].

### 2.3.2 Compostos voláteis em livros de celulose de algodão – potenciais marcadores

Uma análise mais cuidada das tabelas 2.3 e 2.4, permitiu verificar a presença de compostos emitidos por apenas uma das matrizes, não tendo sido detectados na outra.

Nos livros feitos de celulose de algodão identificaram-se o isopropil miristato e o isopropil palmitato. Os seus espectros de massa e estruturas químicas estão apresentados na Figura 2.14, a sua identificação foi confirmada pela injeção de padrões sintetizados (secção 4.5.1) e análise dos seus espectros de massa obtidos nas mesmas condições experimentais. Estes compostos foram identificados em livros de celulose de algodão de diferentes anos e em estados de conservação aparentemente idênticos (Figura 2.15).

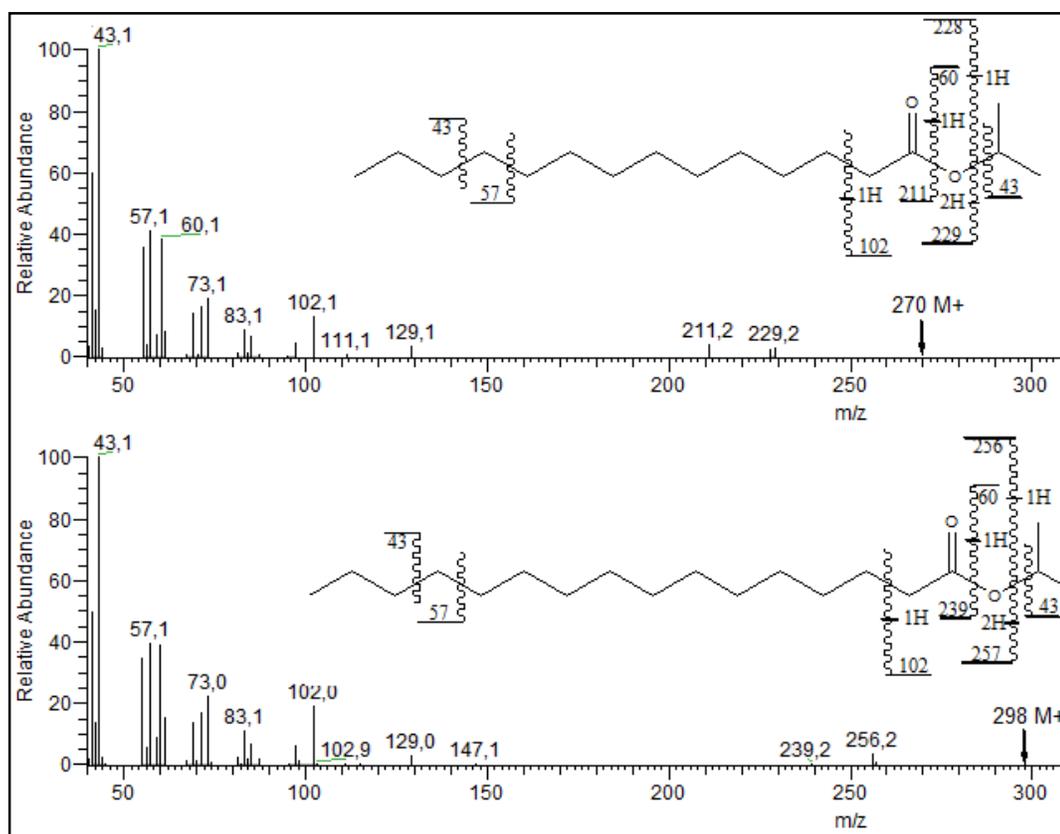


Figura 2.14 – Espectros de massa do isopropil miristato ( $C_{17}H_{34}O_2$ ) e isopropil palmitato ( $C_{19}H_{38}O_2$ ). Análise efectuada por HS-SPME-GC/MS em modo de impacto

electrónico positivo (EI+). Coluna BPX5 30 m x 0.25 mm x 1 µm. Condições experimentais descritas na secção 4.

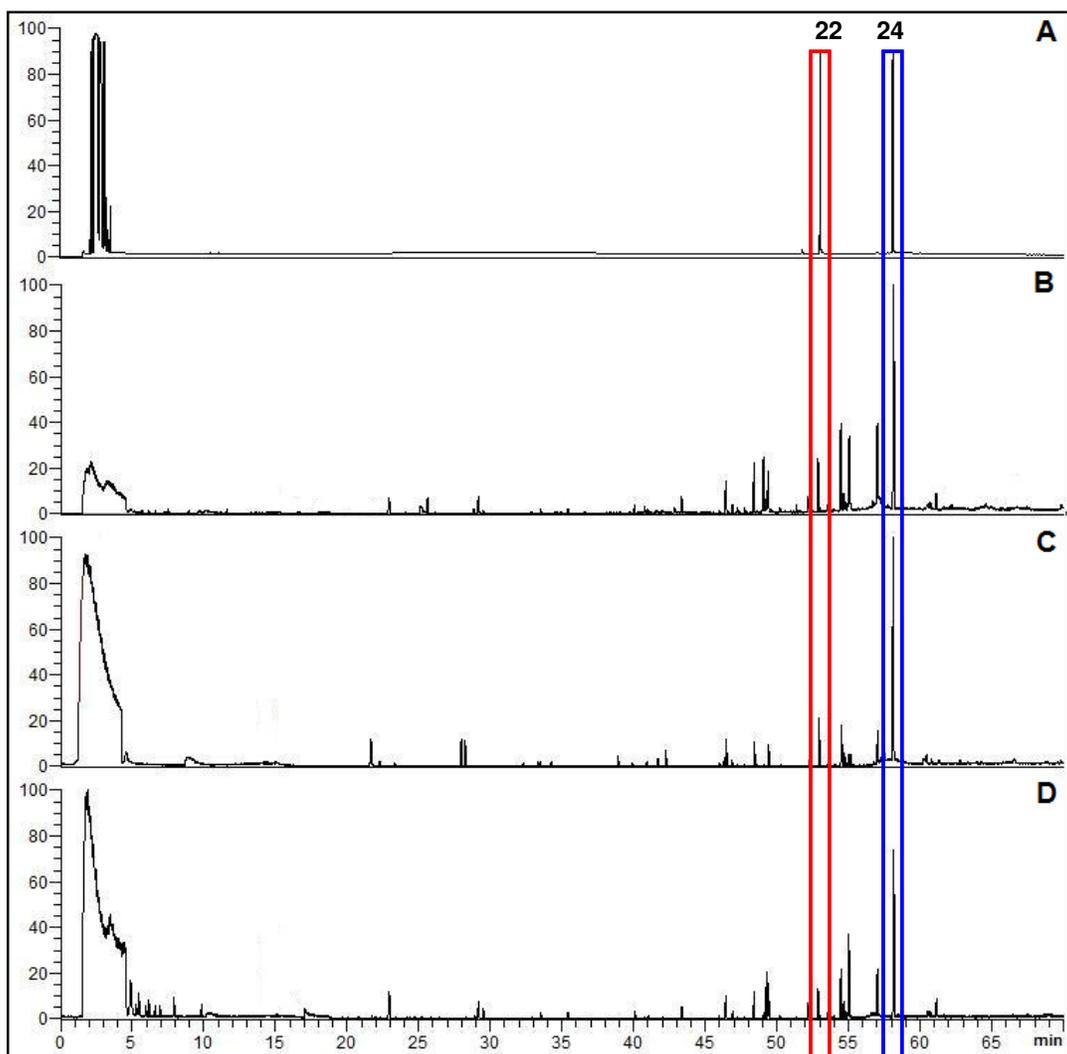


Figura 2.15 – Análise cromatográfica de livros antigos feitos de celulose de algodão por HS-SPME(CW/DVB)-GC/MS. A – padrões dos ésteres isopropil miristato (**22**) e isopropil palmitato (**24**); B – Livro do ano 1620, bom estado de conservação; C – Livro do ano 1786, bom estado de conservação; D - Livro de 1794, bom estado de conservação. Coluna BPX5 30 m x 0.25 mm x 1 µm. Condições experimentais descritas na secção 4.

Nos livros antigos feitos de celulose de madeira, de diferentes anos e em diferentes estados de conservação, nas mesmas condições experimentais não foi

detectada a presença de isopropil miristato nem isopropil palmitato, conforme ilustrado na Figura 2.16.

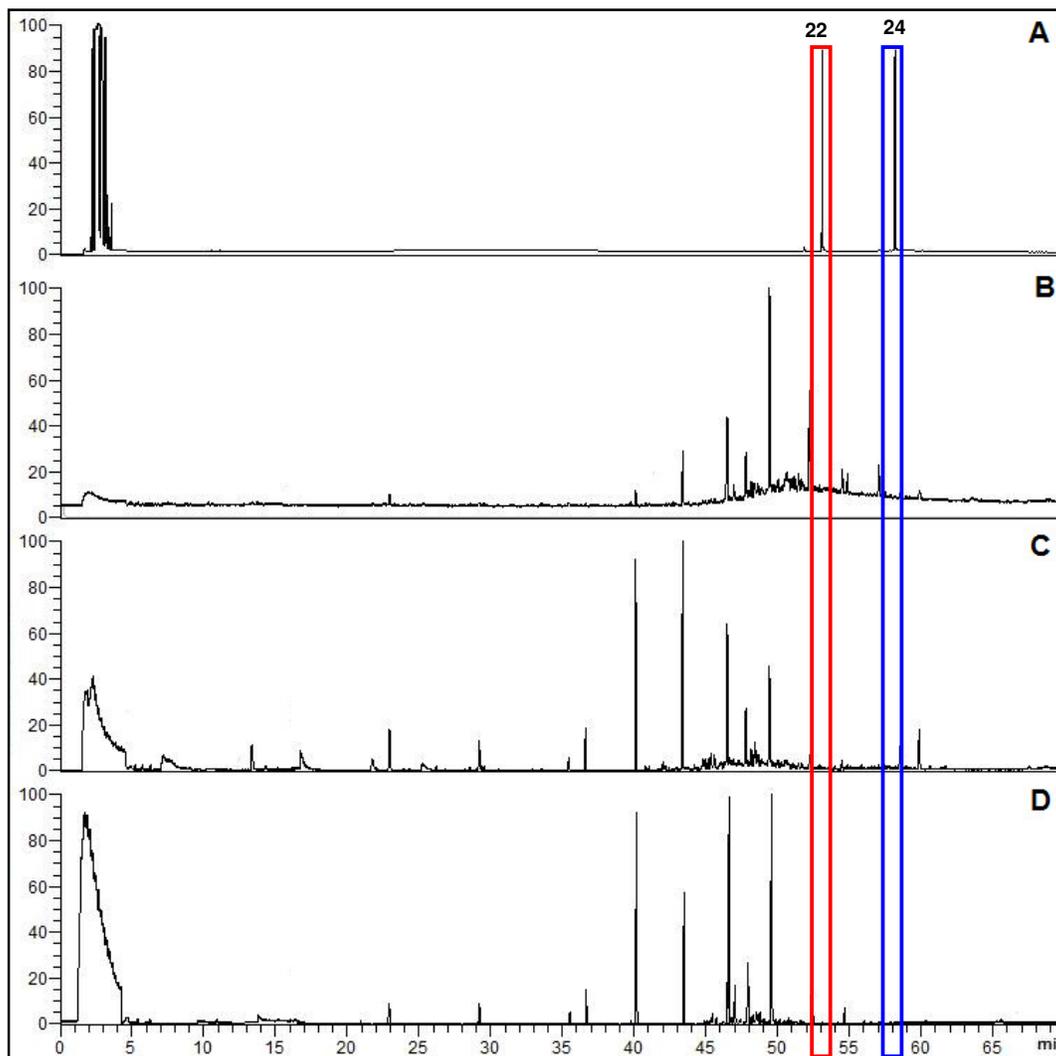


Figura 2.16 – Análise cromatográfica de livros antigos feitos de celulose de madeira por HS-SPME(CW/DVB)-GC/MS. A – padrões dos ésteres isopropil miristato (**22**) e isopropil palmitato (**24**); B – Livro do ano 1930 (A selva), bom estado de conservação; C – Livro do ano 1901 (Inês de Castro) degradado; D - Livro de 1941 (O primo Basílio), bom estado de conservação. Coluna BPX5 30 m x 0.25 mm x 1  $\mu$ m. Condições experimentais descritas na secção 4.

A origem do isopropil miristato e do isopropil palmitato ainda não está definida [22]. Estes dois compostos são potenciais marcadores identificadores do tipo de celulose empregue nos livros – celulose de algodão.

### 2.3.3 Análise quiral

Na análise cromatográfica estereosselectiva efectuada aos VOCs emitidos pelos livros (antigos) identificou-se o 2-etil-1-hexanol, presente nos dois tipos de matrizes. Apenas o enantiómero (*S*)-2-etil-1-hexanol foi detectado em ambos os casos (Figuras 2.17 e 2.18).

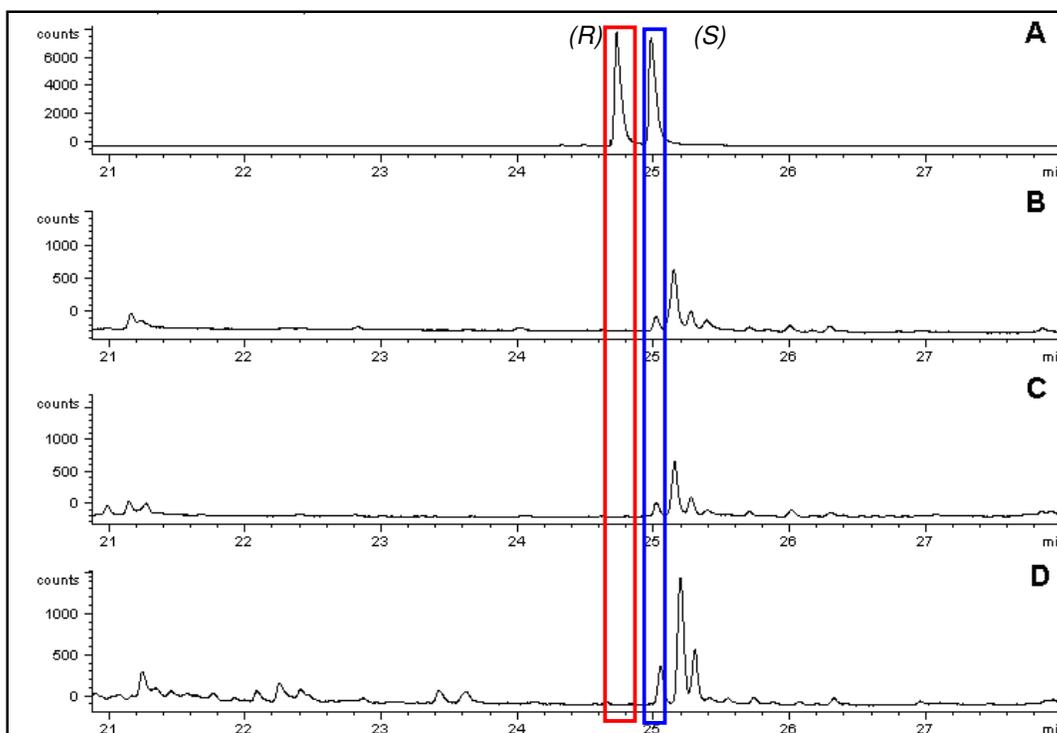


Figura 2.17 – Análise cromatográfica estereosselectiva de livros antigos feitos de celulose de madeira: HS-SPME(DVB/CAR/PDMS)-GC/FID. A – mistura racémica (*R*) e (*S*)-2-etil-1-hexanol; B – Livro do ano 1930 (A selva) bom estado de conservação; C – Livro do ano 1927 (The sign of silence) degradado; D - Livro de 1941 (O primo Basílio) bom estado de conservação. Coluna Cyclosilb 30 m x 0.25 mm x 0.25  $\mu$ m. Condições experimentais descritas na secção 4.

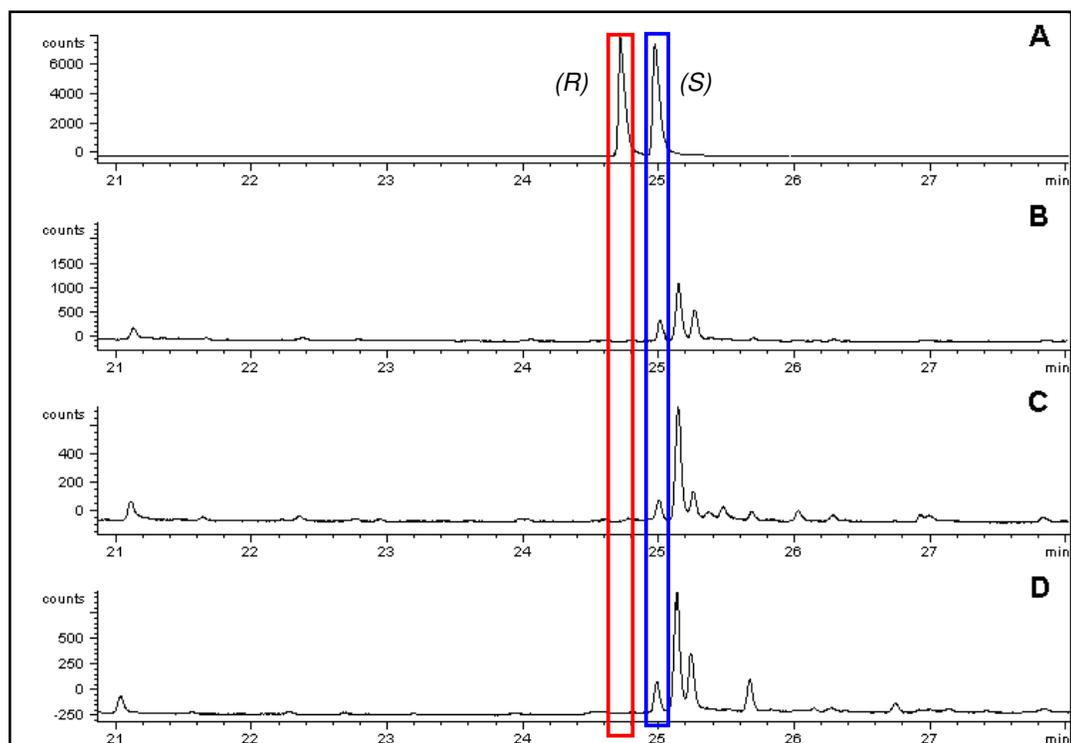


Figura 2.18 – Análise cromatográfica estereosselectiva de livros antigos feitos de celulose de algodão: HS-SPME(DVB/CAR/PDMS)-GC/FID. A – mistura racémica (*R*) e (*S*)-2-etil-1-hexanol; B – Livro do ano 1776, bom estado de conservação; C – Livro do ano 1708, bom estado de conservação; D - Livro de 1697, degradado. Coluna Cyclosilb 30 m x 0.25 mm x 0.25  $\mu$ m. Condições experimentais descritas na secção 4.

Um outro composto quiral foi detectado em ambas as matrizes. No entanto, a sua estrutura não está ainda inequivocamente determinada. Saliente-se, o facto deste composto se apresentar como mistura racémica nos livros de celulose de madeira em bom estado de conservação (Figura 2.19 – A e B); os livros degradados mostraram predominância de um dos enantiómeros (Figura 2.19 – C). A análise dos livros de celulose de algodão, mostram que quer os livros em bom estado de conservação (Figura 2.20 – A e B) quer os livros degradados (Figura 2.20 – C), evidenciam a predominância de um dos enantiómeros.

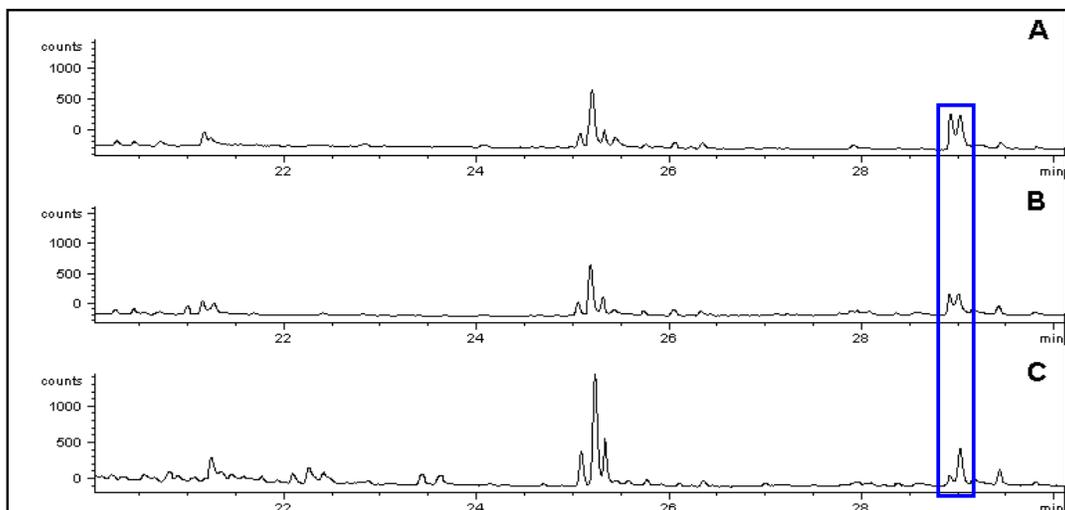


Figura 2.19 – Análise cromatográfica estereosseletiva de livros de celulose de Madeira: HS-SPME(DVB/CAR/PDMS)-GC/FID. A – Livro do ano 1930 (A selva) bom estado de conservação; B – Livro de 1941 (O primo Basílio) bom estado de conservação; C – Livro do ano 1927 (The sign of silence) degradado. Coluna Cyclosilb 30 m x 0.25 mm x 0.25  $\mu$ m. Condições experimentais descritas na secção 4.

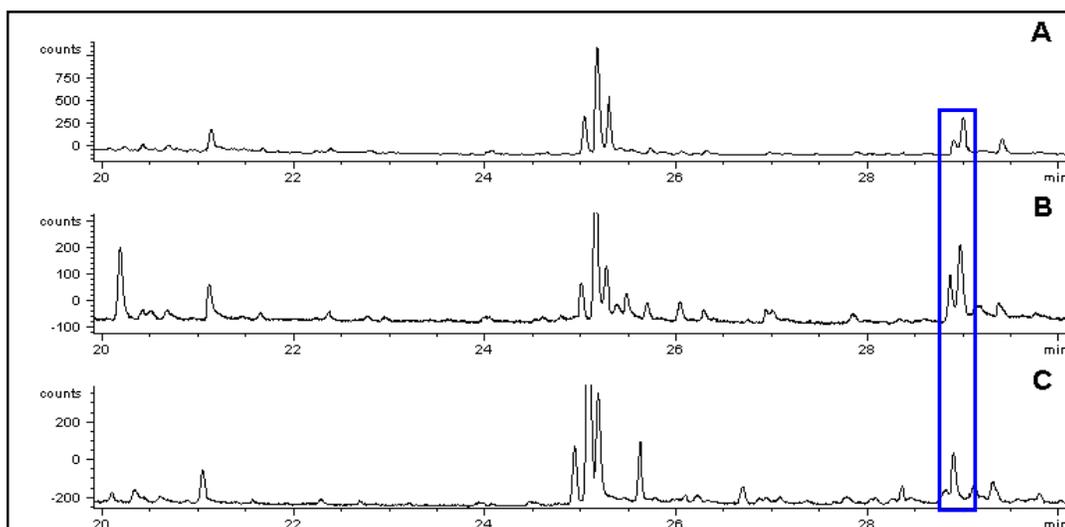


Figura 2.20 – Análise cromatográfica estereosseletiva de livros de celulose de algodão: HS-SPME(DVB/CAR/PDMS)-GC/FID. A – Livro do ano 1776, bom estado de conservação; B – Livro do ano 1708, bom estado de conservação; C - Livro de 1697, degradado. Coluna Cyclosilb 30 m x 0.25 mm x 0.25  $\mu$ m. Condições experimentais descritas na secção 4.

Este composto é um potencial marcador, já que a sua composição estereosseletiva varia consoante o tipo de matriz e é dependente do estado de conservação do livro.

### **3. CONCLUSÕES**

### 3. CONCLUSÕES

A presente dissertação de mestrado apresenta o desenvolvimento e optimização, de uma metodologia analítica não destrutiva adequada à avaliação do estado de conservação/preservação de objectos do património cultural, nomeadamente livros antigos, tendo como alvo os compostos orgânicos voláteis emitidos. Foram identificados perfis químicos dependentes do tipo de material – celulose de algodão ou celulose de madeira, bem como do seu estado de preservação/degradação. O 2-furfural foi identificado como potencial marcador de degradação celulósica, tendo em consideração as diferenças estruturais das fibras contendo celulose (algodão e madeira) utilizadas na manufactura dos livros antigos estudados. Os ésteres isopropil miristato e isopropil palmitato foram identificados como potenciais marcadores de livros de celulose de algodão.

A análise quiral, utilizada pela primeira vez neste tipo de estudo, mostra que apenas o enantiómero (*S*)-2-etil-1-hexanol está presente neste tipo de matrizes, tendo-se verificado existir um composto quiral (ainda não totalmente identificado) que mostrou um comportamento específico dependendo do tipo de celulose e do estado de conservação, sendo um potencial marcador quiral.

A técnica desenvolvida utiliza HS-SPME-GC/MS tendo revelado ser bastante útil no estudo não destrutivo de objectos do património cultural, mostrando-se uma técnica versátil na detecção, separação e identificação simultânea de diferentes compostos orgânicos voláteis, quer se trate de compostos de baixa polaridade (hidrocarbonetos) como de compostos voláteis de baixo peso molecular funcionalizados.

Futuramente há que aprofundar o estudo dos VOCs emitidos pelos livros antigos no que respeita à análise de compostos quirais e validá-lo estatisticamente através do número de amostras.

## **4. PARTE EXPERIMENTAL**

## **4. PARTE EXPERIMENTAL**

### **4.1 Reagentes**

#### **4.1.1 Solventes e Padrões utilizados**

Os solventes utilizados na preparação das amostras – hexano - foi obtido da Scharlau e o Metanol foi obtido da LiChrosolv (Alemanha), ambos grau GC. Os padrões, 1-butanol, ácido acético, tolueno, hexanal, 2-furfural, heptanal, fenol, octanal, 2-etil-1-hexanol, nonanal, ácido 2-metil-butírico, ácido 2-etil-hexanóico, ácido (S)-(+)-2-metil-butírico, (+)-limoneno, (-)-limoneno e os hidrocarbonetos  $C_8H_{18}$ - $C_{24}H_{50}$  foram adquiridos da Sigma-aldrich (Alemanha), todos com pureza superior a 99%.

#### **4.1.2 Preparação de soluções padrão.**

Todas as soluções padrão foram preparadas em hexano ou metanol na mesma ordem de grandeza, 1 miligrama de padrão em 1 mililitro de solvente (1000 ppm).

### **4.2 Preparação e recolha da amostra**

#### **4.2.1 Livros antigos**

Os livros utilizados neste estudo são de diferentes anos, constituídos por diferentes tipos de papel (celulose de algodão e celulose de madeira) e com diferentes condições de armazenamento ( degradados ou preservados).

Os livros de celulose de madeira estudados foram:

- Livro “A Selva”, editora Guimarães & C.<sup>a</sup>, 3<sup>a</sup> edição, ano de 1930, bom estado de conservação.
- Livro “O Primo Basílio”, editora livraria LELLO & IRMÃO, 16<sup>a</sup> edição, ano de 1941, bom estado de conservação.
- Livro “Inês de Castro”, editora typographia lusitana, 3<sup>a</sup> edição, ano de 1901, degradado.
- Livro “The Sign of Silence”, Ward, Lock and CO., Limited, ano de 1927, degradado.

Os livros de celulose de algodão estudados foram:

- Livro “Historia das sagradas consegração dos conegos seculares”, ano de 1697, degradado.
- Livro “Nobiliarchia Portuguesa”, ano de 1708, bom estado de conservação.
- Livro “Ad Jus Civile”, ano de 1776, bom estado de conservação.
- Livro “Crónicas R. Pina”, ano de 1620, bom estado de conservação.
- Livro “Proc. Casamento”, ano de 1786, bom estado de conservação
- Livro “Proc. Casamento”, ano de 1794, bom estado de conservação.

## **4.2.2 Armazenamentos dos livros**

Os livros antigos foram colocados no interior de sacos de plástico com fecho *zip* selados para uma melhor análise dos VOCs emitidos pelos dois tipos diferentes de material celulósico. A fibra de SPME foi colocada entre duas páginas aleatórias e exposta sem tocar em qualquer uma das páginas do livro. Os livros foram mantidos fechados durante o tempo de exposição da fibra e os sacos mantiveram-se selados.

## **4.3 Extracção de componentes voláteis**

### **4.3.1 HS-SPME**

A extracção dos compostos orgânicos voláteis foi efectuada utilizando a microextracção em fase sólida. Usou-se 4 fibras diferentes para a extracção dos VOCs: uma fibra de polidimetilsiloxano (PDMS) de 100 µm de espessura de filme, uma fibra de DVB/CAR/PDMS de 50/30 µm de espessura de filme, uma fibra de CAR/PDMS de 75 µm de espessura de filme e uma fibra de CW/DVB de 70 µm de espessura de filme, todas adquiridas da Supelco. As fibras foram colocadas manualmente num *holder* (Supelco). As diferentes fibras foram condicionadas a temperaturas diferentes e durante tempos diferentes. As fibras PDMS e DVB/CAR/PDMS foram condicionadas a 250°C durante 30 minutos, a fibra CAR/PDMS foi condicionada a 280°C durante 1 hora e a fibra CW/DVB foi condicionada a 230°C durante 30 hora.

A extracção dos compostos orgânicos voláteis teve a duração de 4 horas à temperatura ambiente para cada livro antigo utilizando as fibras PDMS, CAR/PDMS e DVB/CAR/PDMS. Para a fibra CW/DVB utilizou-se como tempo de extracção 2 horas à temperatura ambiente. Após a extracção, os compostos absorvidos foram desorvidos no GC durante 10 minutos, com injector split/splitless a 240°C com splitless de 3 minutos. Os 10 minutos de desorção foram suficientes para desorver todos os analitos, confirmação feita com brancos a seguir às análises. Foram efectuadas várias replicadas para cada livro estudado.

## **4.4 Instrumentação e condições cromatográficas**

### **4.4.1 Análises por GC/MS**

As análises em GC/MS foram efectuadas no TRACE GC acoplado com um TRACE MS (Finnigan) de quadrupolo. Os compostos foram separados numa coluna capilar BPX5 (SGE, UK) 30 m x 0,25 mm x 1 µm de espessura de filme. Usou-se hélio como gás de arraste com um fluxo constante de 1 mLmin<sup>-1</sup>. A temperatura do injector foi definida a 250 °C. O programa de temperatura do forno foi: temperatura inicial de 35 °C durante 5 minutos, aumento até 240 °C a 4 °Cmin<sup>-1</sup> e temperatura final de 240°C durante 30 minutos.

Usou-se o modo de impacto electrónico positivo de +350 V. A interface foi mantida a 220°C e a fonte iónica do espectrómetro de massa a 250 °C. O varrimento de massas usado foi de 40 a 460 amu. O modo de aquisição foi o *full scan*.

#### 4.4.2 análises por GC/FID

As análises em GC/FID foram efectuadas utilizando duas colunas diferentes em simultâneo. Utilizou-se um cromatógrafo Agilent GC com uma coluna capilar BPX5 (SGE, UK) 30 m x 0,25 mm x 0,25 µm de espessura de filme e uma coluna quiral cyclosilb (J&W scientific, USA) 30 mx 0,25 mm x 0,25 µm de espessura de filme.

Usou-se hidrogénio como gás de arraste com um fluxo constante de 1,2 mLmin<sup>-1</sup>. A temperatura do injecto e dos dois detectores foi definida a 240 °C. O programa de temperatura do forno foi: temperatura inicial de 35 °C durante 5 minutos, aumento até 240 °C a 4 °Cmin<sup>-1</sup> e temperatura final de 240°C durante 30 minutos.

#### 4.5 Síntese de padrões analisados

##### 4.5.1 Síntese dos ésteres isopropílicos

Pesou-se cerca de 1 mg de ácido mirístico e ácido palmítico para dois vials de fundo cónico e adicionou-se 5 eq de álcool isopropílico e uma gota de ácido clorídrico concentrado a cada um dos *vials*. Os vials foram agitados no vortex (ZX<sup>3</sup>, Velp Científica) e postos no reacti-term (LAB-LINE) a reagir durante 1 hora à temperatura de aproximadamente 90°C. Seguidamente, extraiu-se cada amostra 3 vezes com hexano e transferiu-se as fracções de hexano para dois *vials* de fundo cónico com *molecular sievs*. Por último, concentrou-se as amostras sob corrente de azoto (Air Liquide, Portugal).

##### 4.5.2 Síntese dos ésteres metílicos

Colocou-se cerca de 10 µl da mistura racémica de ácido 2-metil-butírico num vial de fundo cónico e adicionou-se 1 gota de metanol e uma solução etérea de diazometano. Foi adicionada a solução de diazometano até que a solução mantivesse uma cor amarelada e que já não houvesse libertação de azoto. De seguida a solução foi concentrada sob corrente de azoto até ficar incolor. Este

procedimento foi utilizado também para a mistura racêmica do ácido 2-etil-hexanóico e para o enantiômero ácido (*S*)-(+)-2-metil-butírico.

## **5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] – [http://en.wikipedia.org/wiki/Paper\\_history](http://en.wikipedia.org/wiki/Paper_history), Setembro de 2009;
- [2] – <http://www.hqpapermaker.com/paper-history>, Setembro de 2009;
- [3] – Dupont, A.; Egasse, C.; Morin, A.; Vasseur, F. Comprehensive characterisation of cellulose- and lignocellulose- degradation products in aged papers: Capillary zone electrophoresis of low-molar mass organic acids, carbohydrates, and aromatic lignin derivatives. *Carbohydr. Polym.* 68:1-16; 2007.
- [4] – <http://worldofmolecules.com/materials/cotton.htm>, Setembro de 2009;
- [5] – [http://www.tis\\_gdv.de/tis\\_e/ware/fasern/baumwoll/baumwoll.htm](http://www.tis_gdv.de/tis_e/ware/fasern/baumwoll/baumwoll.htm), Setembro de 2009.
- [6] – Potthast, A.; Rosenau, T.; Kosma, P. Analysis of oxidized functionalities in cellulose. *Adv. Polym. Sci.* 205:1 – 48; 2006.
- [7] – <http://en.wikipedia.org/wiki/Cellulose>, Setembro de 2009.
- [8] – Mamman, A. *et al*, Furfural: Hemicellulose/xylose-derived biochemical. *Biofuels, Bioprod. Bioref.* 2:438-454; 2008.
- [9] – <http://chemistry.umeche.maine.edu/Fort/Cole-Fort.html>, setembro de 2009.
- [10] – Suhas; Carrot, P. J. M.; Carrot, M. M. L. R. Lignin – from natural absorbent to activated carbon: a review. *Biores. Technol.* 98:2301–2312; 2007.
- [11] – <http://en.wikipedia.org/wiki/Paper>, Setembro de 2009.
- [12] – <http://www.straightdope.com/columns/read/2231/how-is-paper-made>, Setembro de 2009.

[13] – Faubel, W.; Staub, S.; Simon, R.; Heissler, S.; Pataki, A.; Banik, G. Non-destructive analysis for the investigation of decomposition phenomena of historical manuscripts and prints. *Spectrochim. Acta part B* 62:669-676; 2007.

[14] - Lattuati-Derieux, A.; Bonnassies-Termes, S.; Lavédrine, B. Characterisation of compounds emitted during natural and artificial ageing of a book. Use of headspace-solid-phase microextraction/gas chromatography/mass spectrometry. *J. Cult. Herit.* 7:123-133; 2006.

[15] – Strlic, M.; Cigic, I. K.; Kolar, J.; Bruin, G.; Pihlar, B. Non-destructive evaluation of historical paper based on pH estimated from VOC emissions. *Sensors* 7:3136-3145; 2007.

[16] – Scheirs, J; Camino, G.; Avidano, M.; Tumiatti, W. Origin of furanic compounds in thermal degradation of cellulosic insulating paper. *J. Appl. Polym. Sci.* 69:2541-2547; 1998.

[17] – Rocha, S. M.; Gonçalves, V.; Evtuguin, D.; Delgadillo, I. Distinction and identification of lignins based on their volatile headspace composition. *Talanta* 75:594-597; 2008.

[18] – Tarabanko, V. E.; Petukhov, D. V.; Selyutin, G. E. New mechanism for the catalytic oxidation of lignin to vanillin. *Kinet.Catal.* 45:569-577; 2004.

[19] - Risticovic, S.; Niri, V. H.; Vuckovic, D.; Pawliszyn, J. Recent developments in solid-phase microextraction. *Anal. Bioanal. Chem.* 393:781-795; 2009.

[20] – Valente, A. L. P.; Augusto, F. Microextracção em fase sólida. *Química Nova* 23:523-530; 2000.

[21] – Beltran, J.; López, F. J.; Hernández, F. Solid-phase microextraction in pesticide residue analysis. *J. Chromatogr. A* 885:398-404; 2000.

[22] – Lattuati-Derieux, A.; Bonnassies-Termes, S.; Lavédrine, B. identification of volatile organic compounds emitted by a naturally aged book using solid-phase microextraction/gas chromatography *J. Chromatogr. A* 1026:9-18; 2004.

[23] – Gaspar, E. M.; Lucena, A. F.; Duro da Costa, J.; Chaves das Neves, H. Organic metabolites in exhaled human breath - A multivariate approach for identification of biomarkers in lung disorders *J. Chromatogr. A* 1216:2749-2756; 2009.

[24] – [http://www.preservation.gc.ca/howto/articles/paper\\_e.asp](http://www.preservation.gc.ca/howto/articles/paper_e.asp), Setembro de 2009.

[25] – Bell, D. J. Wood cellulose. The depolymerised celluloses of wood and cotton. *Biochem. J.* 598-608; 1932.

[26] – Das, D. B.; Mitra, M. K.; Wareham, J. F. Structure of cotton alpha-cellulose. *Nature* 174:1058-1059; 1954.